
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

SUR QUELQUES POINTS RELATIFS à l'action pathogène de l'amibe dysentérique

PAR M. CH. DOPTER

Médecin-major de 2^e classe, professeur agrégé au Val-de-Grâce.

(Travail du Laboratoire de Bactériologie du Val-de-Grâce.)

(Avec la pl. XIII.)

Les travaux de Kartulis ¹, Kruse et Pasquale ², Councilman et Lafleur ³ etc., ont contribué à isoler du groupe des dysenteries une forme de cette affection sévissant particulièrement dans les pays chauds : la dysenterie amibienne. Elle est causée par l'action pathogène d'une amibe spéciale, l'*amœba dysenteriae* ou *Entamœba histolytica*, de Schaudinn.

Ces amibes particulières peuvent être constatées dans les selles ; on les retrouve dans le fond des ulcères qui caractérisent anatomiquement cette dysenterie et la différencient de la dysenterie bacillaire (ulcères profonds, à bords décollés et surplombants, en bouton de chemise). En dehors des ulcères, elles se rencontrent dans la sous-muqueuse, éventuellement dans les couches musculaires ; quelques auteurs les ont décelées dans la muqueuse, mais exceptionnellement.

C'est sans doute en raison de ce dernier fait que les avis sont encore très partagés sur le mode et le lieu de pénétration des amibes dans la paroi intestinale. Pour Kartulis, Kruse et Pasquale, qui n'ont jamais constaté de parasites dans la muqueuse, l'amibe dysentérique s'introduirait directement dans la tunique moyenne ; là elle contribuerait à former de véritables abcès ne tardant pas à s'ulcérer et à se faire jour à travers la

1. KARTULIS, *Centralblatt für Bacteriologie*, 1891, p. 365.

2. KRUSE ET PASQUALE, *Zeitschrift für Hygiene*, 1894.

3. COUNCILMAN ET LAFLEUR, *The John Hopkins Hospital Reports* 1891, p. 395.

muqueuse. Councilman et Laflour l'ont vue dans la muqueuse, mais, conclusion inattendue, il leur parut vraisemblable d'admettre qu'après avoir pullulé dans la sous-muqueuse et y avoir causé des désordres, elle envahit secondairement la muqueuse de la profondeur vers la surface.

A la vérité, les intestins examinés par les auteurs précédents étaient peu favorables à la rigueur de l'interprétation; les altérations y étaient de date trop ancienne, et les délabrements trop considérables : la plupart des amibes siégeaient dans la sous-muqueuse, occupant le fond des ulcères largement ouverts dans la cavité digestive, et rares sont, en semblable circonstance, les parasites perceptibles dans les lambeaux de muqueuse nécrosée, abrasée à la faveur du processus ulcératif sous-jacent. Pour saisir sur le fait le mécanisme de pénétration de l'amibe, il convient donc d'observer les lésions récentes : mais celles-ci sont exceptionnelles chez les dysentériques. C'est pour cette raison que Jürgens¹ a cherché à résoudre le problème par l'expérimentation : l'observation de lésions jeunes le conduisit à conclure que l'invasion parasitaire s'effectuait par la muqueuse, et que l'amibe y pénétrait par l'orifice des tubes glandulaires. Mais ces données expérimentales étaient-elles applicables à l'homme? C'est ce qu'il importait de déterminer.

I

LIEU DE PÉNÉTRATION DE L'AMIBE

L'examen de deux cas de dysenterie amibienne terminés par la mort en pleine évolution aiguë m'a permis d'étudier des lésions très récentes, presque à leur début, et de fixer leurs caractères.

Les pièces ont été fixées dans l'alcool, puis débitées en coupes sériées. La coloration a été faite au moyen de la thionine, avec différenciation par l'acide oxalique à 1 0/0².

Dans les phases les plus avancées du processus, les ulcérations sont profondes, et la muqueuse décollée laisse à nu la

1. JURGENS, *Beobachtungen u. Untersuchungen über d. Ruhr*. Berlin, 1902.

2. Les coupes étaient recouvertes de la solution de thionine phéniquée de Nicolle pendant 12 à 20 minutes, puis plongées dans une solution d'acide oxalique à 1 ou 2 0/0. Dans ce liquide, la différenciation s'effectuant rapidement, il convient de la suivre au microscope; on l'arrête quand le noyau des amibes a pris une teinte violette; on achève ensuite la décoloration par l'alcool absolu (xylol et montage dans le baume).

sous-muqueuse et les couches musculaires. Les amibes sont perceptibles sur les bords des ulcères; dans la profondeur, on les voit s'insinuer jusque sous la séreuse péritonéale. L'étude de ces altérations ne donne place à aucune interprétation concernant la pénétration des parasites.

A un stade plus rapproché du début et sur certaines coupes où la muqueuse paraît intégralement conservée, on constate des foyers de nécrose dans l'épaisseur de la sous-muqueuse vascularisée et oedématiée. Les limites extérieures de ces foyers sont assez nettement tranchées; la partie centrale peut ou non avoir subi un commencement de fonte granuleuse. Au milieu de ce tissu dont les éléments histologiques sont méconnaissables et fixent mal la matière colorante, on trouve des amibes en abondance variable, mais nombreuses surtout au centre. La muqueuse apparaît intacte, présentant seulement du catarrhe glandulaire, une légère infiltration de la trame conjonctive et une vascularisation habituellement prononcée.

Devant semblables figures, où l'abcès sous-muqueux est en voie de formation ou déjà constitué, et le tissu environnant en état d'intégrité relative, sinon absolue, il semble bien que l'on puisse localiser dans la sous-muqueuse le début de l'évolution ulcéreuse. Mais, sur les coupes voisines, il n'en est plus ainsi : ce tissu de nécrose, au lieu d'être nettement isolé, s'étend plus ou moins loin, gagne, puis détruit la *muscularis mucosae*, et aussi la muqueuse elle-même sur toute sa hauteur, venant ainsi affleurer à la partie la plus superficielle de la membrane; des amibes sont visibles alors jusque dans la muqueuse proprement dite. Il est à remarquer, toutefois, que l'étendue des lésions de la muqueuse est bien minime, en comparaison de celles qui atteignent la sous-muqueuse : volumineuse et large dans la

Par ce procédé, dû à un auteur américain dont je n'ai pu retrouver le nom, tous les éléments histologiques de la préparation, cellules glandulaires, cellules conjonctives, leucocytes, etc., sont colorés en bleu, le noyau ayant pris électivement la matière colorante; seuls les noyaux des amibes sont colorés en rouge violacé; leur protoplasma est bleu clair. La répartition de ces parasites dans la coupe est ainsi des plus aisées à percevoir, et leurs rapports avec les lésions s'observent beaucoup plus facilement qu'avec tous les procédés usités. Cette méthode contribue encore à établir nettement que les figures représentant les amibes ne sont pas dues à des cellules humaines modifiées (Babes), interprétation qui engagea longtemps les auteurs à refuser de voir dans les amibes l'agent pathogène de cette variété de dysenterie.

La coloration élective précédente ne peut être obtenue que si les pièces sont fixées à l'alcool. Les résultats sont nuls avec fixation par le sublimé acétique.

tunique moyenne, la nécrose se continue dans la muqueuse sous la forme d'une trainée rétrécie, et l'ensemble rappelle assez bien l'aspect dit « en bouton de chemise » des ulcères définitivement constitués.

La localisation sous-muqueuse de ces foyers de nécrose n'est donc qu'apparente; elle ne peut dès lors étayer l'opinion qui admet la pénétration de l'amibe par la sous-muqueuse. Leur étendue et leur développement plus considérables en cette partie de la tunique, ne sauraient être une preuve plus valable : ces lésions sont en effet plus marquées à la surface qu'à la profondeur, de date plus ancienne au niveau de la muqueuse que dans les foyers élargis s'épanouissant sous la *muscularis mucosæ*. Si les amibes sont moins nombreuses à la surface, la destruction des éléments histologiques y est plus complète, alors que le processus ulcératif ne se constate pas dans la sous-muqueuse. Bien plus, en certaines régions de la muqueuse, les lésions peuvent être déjà très accusées, alors que dans la tunique moyenne, les amibes, éparses, disséminées, venant sans doute d'y faire irruption, n'ont pas encore constitué l'altération nécrobiotique qui les accompagne habituellement.

On peut donc déjà admettre que l'amibe paraît se cantonner d'abord dans la muqueuse, avant de passer dans la sous-muqueuse. La preuve en est définitivement fournie par l'examen des altérations plus récentes encore :

Dans les parties les moins atteintes, en effet, malgré les lésions opérées, sans doute à distance (congestion, œdème), la sous-muqueuse est dépourvue d'amibes; les parasites *siègent exclusivement dans la muqueuse* :

Sur des espaces très limités de cette dernière, voisins de régions restées saines, ou légèrement hyperémiques, on constate des altérations toutes récentes. A la surface, le tissu glandulaire normal et la trame conjonctive sont remplacés par une masse vitreuse, amorphe où des amibes se montrent disséminées ou agglomérées avec leur aspect habituel. Vers la partie moyenne et dans la couche profonde, les glandes et leurs canaux sont perceptibles; mais l'épithélium sécréteur est disloqué, mal coloré; refoulé vers l'orifice des glandes, il ne tapisse plus le fond des culs-de-sac, qui sont comblés par des amas de parasites. Ces amibes peuvent encore se rencontrer dans la lumière du

canal, où bien entre l'épithélium et la membrane basale; on les voit encore dans les mailles du tissu conjonctif, infiltré et vascularisé à l'excès. Leur abondance s'accuse au fur et à mesure que l'on se rapproche de la *muscularis mucosæ* devant laquelle elles s'arrêtent, du moins à ce stade (pl. XIII, fig. 1 et 2), respectant ainsi les membranes sous-jacentes.

De l'étude de cette phase initiale, il ressort nettement que, la tunique interne participant seule au processus amibien, à l'exclusion complète des tuniques sous-jacentes, *la pénétration de l'amibe s'effectue par la muqueuse*. Cette conclusion est en étroite concordance avec les constatations similaires faites par Jürgens dans la dysenterie expérimentale du chat.

Il reste à déterminer comment s'opère cette pénétration.

II

MODE DE PÉNÉTRATION DE L'AMIBE

Malgré les investigations réitérées sur l'intestin des dysentériques précédemment étudiés, je n'ai pu saisir sur le fait la pénétration du parasite dans la muqueuse. J'ai dû procéder à cette recherche sur des pièces de dysenterie expérimentale.

On sait que les selles glaireuses de la dysenterie amibienne, lorsqu'elles sont inoculées au chat, par la voie gastrique ou rectale, communiquent à cet animal une dysenterie typique. Trois chats adultes ont été infectés par la voie rectale, et sacrifiés le jour même où la première selle mucoso-sanglante était constatée. Le gros intestin, ne présentant pas encore d'ulcération mais uniquement de l'hyperémie localisée, a été immédiatement fixé dans l'alcool, puis, après inclusion, débité en coupes sériées comme les intestins humains : le même procédé de coloration a été employé.

A cette phase initiale de la maladie, les amibes se rencontrent uniquement dans la muqueuse, qu'elles ont envahie en des points très limités, et se cantonnent de préférence dans les culs-de-sac lieberkühniens; les seules altérations, constatées dans le voisinage, consistent en un léger état inflammatoire, hyperémique, avec cellules glandulaires. Telle est l'apparence générale, montrant ici encore, comme l'avait vu Jürgens, l'invasion primitive

de la muqueuse. Jurgens estime que cet envahissement s'effectue par les orifices et la cavité des glandes. De fait, sur certaines préparations, où l'épithélium glandulaire est assez bien conservé, l'amibe se décèle dans la lumière du canal, avant que les cellules du cul-de-sac paraissent altérées.

Mais certaines figures permettent d'envisager autrement le mode d'accès du parasite, et le mécanisme des lésions qu'il provoque.

En certains points, très rares d'ailleurs, on constate à la partie la plus superficielle de la muqueuse, des amas d'amibes, siégeant, *non pas dans les canaux des glandes*, qui d'ailleurs n'ont subi encore aucune atteinte, *mais dans le tissu conjonctif*, sous-épithélial et interglandulaire. Grâce à la technique des coupes en série, j'ai pu saisir sur le fait l'irruption du parasite à travers la barrière épithéliale. La fig. 3 montre, en effet, entre deux portions de cet épithélium dont les éléments cellulaires ont proliféré, une solution de continuité de ce tissu de revêtement. Des amibes sont perceptibles en regard de cette brèche ouverte. Là, dans la trame conjonctive, elles provoquent un appel de leucocytes issus des vaisseaux hyperémiés du voisinage.

Quand de la surface on se dirige vers la profondeur, on rencontre de-ci de-là quelques amibes situées toujours *entre les glandes et non à leur intérieur*. En un point cependant, deux parasites sont accolés à la face interne de la membrane basale, ayant refoulé l'épithélium resté encore intact vers le centre du canal glandulaire.

Ce fait montre à l'évidence que, si l'amibe peut pénétrer et pénétre dans l'intérieur d'une glande, elle le fait de dehors en dedans, en traversant la membrane basale, à la faveur de ses mouvements propres. Cette constatation est d'ailleurs en concordance manifeste avec la présence prédominante des amibes dans le fond des culs-de-sac, à une phase plus avancée. S'il en est cependant que l'on décèle dans l'intérieur du tube glandulaire, il est infiniment vraisemblable qu'elles y sont parvenues grâce à la destruction de quelques cellules, opérée par le parasite lui-même.

Plus profondément encore, les amibes poursuivent leur route dans le tissu conjonctif, et peuvent ainsi rapidement atteindre

les régions voisines de la *muscularis mucosæ* ; là, elles subissent dans leur progression un temps d'arrêt, et se multiplient avant de la franchir. Parfois, cependant, si un follicule clos se trouve aux alentours, elles l'envahissent rapidement (fig. 3), subissant ainsi vis-à-vis du tissu lymphoïde un véritable appel électif.

En somme, ce qui domine dans l'étude de cette lésion initiale, c'est, après la perforation de la barrière épithéliale de la muqueuse, la marche progressive de l'amibe *par la voie conjonctive* ; elle s'en écarte secondairement pour pénétrer par la membrane basale dans les glandes, où elle localise momentanément son œuvre de destruction, pour la poursuivre ultérieurement dans les pans plus profonds.

III

PATHOGÉNIE DES ALTÉRATIONS PROVOQUÉES PAR L'AMIBE

La destruction des tissus qu'elle envahit, tel est en effet l'aboutissement fatal des désordres provoqués par la pullulation amibienne. Mais comment s'opère-t-elle ?

Un coup d'œil général sur des altérations avancées montre une nécrose des éléments histologiques avec lesquels le parasite a été en contact, une véritable fonte purulente précédant la formation des ulcères. Même à une phase plus récente, partout où l'on trouve des amibes, on trouve de la nécrose ; celle-ci semble donc indissolublement liée à la présence de ce protozoaire. Mais les cas où la lésion est constituée ne sont pas favorables à l'analyse des phénomènes qui accompagnent l'invasion amibienne ; le début de cette dernière est encore seul capable de mieux éclairer à cet égard ;

Dans les régions où il est donné de saisir la pénétration de l'amibe à travers l'épithélium intestinal, on constate d'abord une prolifération épithéliale avec catarrhe glandulaire, s'étendant sur des espaces assez éloignés, puis l'accumulation un peu diffuse d'éléments leucocytaires, enfin, une hyperémie marquée de la muqueuse et même de la sous-muqueuse. Tous ces phénomènes traduisent assurément une réaction de défense contre l'invasion parasitaire. Ils restent tels dans les régions distantes du point de pénétration, mais ne tardent pas à se modifier au

voisinage immédiat de l'amibe; tous les tissus qu'elle aborde : trame conjonctive, glandes etc., leucocytes même, sont frappés de lésions dégénératives à des degrés différents. Ces altérations sont particulièrement perceptibles sur certains follicules clos (fig. 3) récemment envahis par les amibes. Les dernières s'accumulent au centre du follicule qui tend à s'abcéder, et se relient à la périphérie, par des traînées incolores, formées d'éléments nécrosés; il semble que sur le parcours qu'elle a suivi, l'amibe laisse derrière elle cette trace de son passage, qui s'accusera plus tard, par la fonte des cellules atteintes. Enfin l'étude de l'épithélium glandulaire montre à quel point la même action s'exerce sur les cellules qui le constituent.

C'est peut-être en raison de cette puissance nécrosante que l'amibe peut perforer les membranes réputées aussi résistantes que la basale des glandes de Lieberkühn; il semble que l'amibe assure ainsi aux tissus qu'elle veut attaquer une certaine friabilité, lui permettant de triompher plus aisément des résistances qui lui sont opposées.

En résumé : Réaction de défense locale et à distance, puis nécrose rapide de tout élément en contact avec l'amibe, tels paraissent être les phénomènes qui accompagnent l'invasion de ce parasite dans les diverses tuniques intestinales.

Quant à dire comment l'amibe opère cette action nécrosante, il est difficile d'être affirmatif; il s'agit sans doute d'une sécrétion toxique, mais dont l'existence restera hypothétique tant que le principe n'en aura pas été isolé.

IV

CONCLUSIONS

L'étude du rôle pathogène de l'amibe peut se résumer dans les propositions suivantes :

1° L'amibe pénètre dans les parois intestinales par la muqueuse, et non par la sous-muqueuse, comme la plupart des auteurs le prétendent;

2° Elle ne s'engage pas dans les orifices glandulaires, mais traverse la barrière épithéliale qui revêt la face interne de la muqueuse, et se fraye une route dans le tissu conjonctif interglandulaire. De ce point de pénétration, l'amibe envahit les glandes

en traversant la membrane basale de leur épithélium. Suivant la voie conjonctive, elle accède dans la profondeur de la muqueuse, et y subit un temps d'arrêt avant de franchir la *muscularis mucosæ*, et de faire irruption dans la sous-muqueuse ;

3^o Quand elle pénètre dans un tissu, l'amibe détermine tout d'abord, localement et à distance, une réaction inflammatoire destinée à lutter contre l'envahisseur. Cette réaction est bientôt suivie, sur tous les points avec lesquels le parasite est en contact, d'un processus de nécrose, manifestation constante et essentielle de son action pathogène.

Explication de la Planche.

Fig. 1. — Verick obj. 2. Oc. 2.

Intestin humain. Altérations observées au début de la dysenterie amibienne.

La muqueuse seule contient les amibes. A la surface : nécrose complète des tissus, glandulaire et conjonctif. A la partie moyenne et dans la profondeur : glandes altérées, renfermant dans les culs-de-sac des amas d'amibes.

Sur la droite, tissu glandulaire en hypersécrétion.

Fig. 2. — Verick obj. 2. Oc. 2.

Intestin de chat. Lésions au début. Les amibes ont pénétré dans la muqueuse sur des espaces très limités, compris entre des parties saines.

Destruction nécrotique de la partie la plus superficielle. Altérations des glandes ayant subi l'envahissement amibien.

Fig. 3. — Verick obj. 4. Oc. 2.

Dysenterie expérimentale du chat. Lésion initiale.

Pénétration de l'amibe à travers l'épithélium de la muqueuse ; réaction inflammatoire dès son irruption.

Cheminement de l'amibe par la voie conjonctive.

Pénétration de deux parasites dans une glande, par la membrane basale.

Envahissement d'un follicule clos par des amibes qui ont laissé derrière leur passage deux traînées de nécrose.

CONTRIBUTION

A LA

BACTÉRIOLOGIE DES GASTRO-ENTÉRITES INFECTIEUSES

PAR HENRI POTTEVIN

I

Des travaux aujourd'hui nombreux, dont le premier fut celui de Gaertner, et dont les plus importants sont les belles recherches, devenues classiques, de Van Ermenghem ¹, ont nettement établi le caractère infectieux des accidents qui surviennent assez fréquemment à la suite de l'absorption de viandes avariées, ou provenant d'animaux malades. Abstraction faite du Botulisme (dont je ne m'occuperai pas ici) qui présente au point de vue clinique une physionomie tout à fait spéciale et reconnaît probablement pour cause le bacille anaérobie découvert par Van Ermenghem, les infections alimentaires se traduisent par des phénomènes dont la nature et l'évolution sont des plus variables. Tantôt elles produisent des symptômes qui rappellent de très près la fièvre typhoïde, tantôt elles évoluent sans fièvre, donnant dans certains cas extrêmes l'impression d'une attaque foudroyante de choléra. Seule la gastro-entérite se manifeste d'une façon constante. Malgré la diversité des formes cliniques, l'analyse bactériologique a conduit dans tous les cas étudiés, à incriminer des microbes qui sont sinon identiques, du moins extrêmement voisins. Le premier, le *B. Enteriditis* fut découvert par Gaertner ² en 1888 à l'occasion d'accidents survenus à Frankenhausem chez des individus qui avaient consommé la viande d'une vache abattue alors qu'elle était atteinte d'une diarrhée intense, les autres ont été isolés et décrits à l'occasion d'accidents analogues par Gaffky et Paak ³, par Van Ermenghem ⁴, par Hermann ⁵, etc.... On trouvera une excellente mono-

1. VOIR VAN ERMENGHEM, *Bull. Acad. Méd. belge*, 1892 : *Revue d'Hygiène*, 1896 ; *Contribution à l'étude des Intoxications alimentaires*, Paris, Carré et Naud, 1897.

2. GAERTNER, *Semaine médicale*, 1888.

3. GAFFKY ET PAAK, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890.

4. VAN ERMENGHEM, *Loc. cit.*

5. HERMANN, *Archives de médecine expérimentale*, 1899.

graphie de ces microbes dans l'article écrit par Van Ermenghem pour le traité de Bactériologie de Kolle et Wassermann... 2^e vol., p. 937.

Dès l'origine, l'analyse des circonstances dans lesquelles les accidents s'étaient produits a fait admettre que la présence du microbe spécifique dans la viande devait s'expliquer, au moins dans la plupart des cas, par le fait qu'il était l'agent d'une maladie infectieuse dont l'animal souffrait au moment de l'abatage : pourtant, on n'a pu, jusqu'ici, mettre à la charge du *B. Enteriditis* aucune des nombreuses formes de septicémie ou de pneumo-entérite du bétail. Il est vrai que la bactériologie de ces affections est encore pleine d'obscurités et ne saurait guère fournir matière à des comparaisons utiles ; exception faite pour celle de la pneumo-entérite des porcs (Hog-Choléra) que les travaux de ces dernières années ont, on peut dire, complètement éclairée ¹.

La pneumo-entérite du porc comprend deux affections distinctes : la pasteurellose et la peste, qui doivent être liées par certaines circonstances étiogéniques car on les trouve le plus souvent associées. La *Pasteurella* du porc est un coccobacille immobile, extrêmement voisin du microbe du cholera des poules : Le microbe de la peste porcine est un bacille mobile, très analogue au *B. Enteriditis*.

En 1895, G. Pouchet ayant eu à expertiser des fragments d'une viande de porc incriminée comme origine d'accidents graves (une cinquantaine de malades et un mort), put dégager de son étude les conclusions suivantes :

«..... 4^o L'examen microbiologique a permis d'en isoler (de la viande analysée) une bactérie spéciale qui a été identifiée, après expérimentation physiologique répétée, avec le coccobacillus suinum de M. Metchnikoff, bactérie spécifique de la pneumo-entérite infectieuse des porcs.

5^o Les renseignements recueillis sur notre demande par M. le juge d'instruction de D.... les symptômes observés sur les animaux malades, l'évolution et la durée de la maladie, concordent exactement avec les faits précédents.

1. V. NOCARD et LECLAINCHE, *Maladies microbiennes des animaux*, 3^e édition. Tome I^{er}, p. 157 et suiv.

Les accidents étudiés en détail dans les rapports de MM. les D^{rs} E... et G... sont bien attribuables à une seule et même cause et doivent être rapportés à l'ingestion de substances alimentaires rendues toxiques tant par la présence des produits élaborés par la bactérie pendant sa pullulation, que par la bactérie elle-même ¹.

De ce qui précède résultent évidemment, pour l'hygiéniste, des indications précieuses sur la nature des viandes qu'il y a lieu de surveiller et de proscrire, mais la question s'étend et prend un intérêt bien plus vif si on rapproche le B. du Hog-Choléra et le *B. Enteritidis* d'autres microbes découverts et décrits dans ces dernières années, à la suite des travaux de Gwyn et Cushing ² les Paratyphiques ³.

Les paratyphiques ont été le plus souvent trouvés au lieu et place du B. Typhique dans le sang ou les selles de malades qui cliniquement faisaient une fièvre typhoïde, et la réaction d'agglutination a montré qu'ils étaient bien les agents infectieux de la maladie. Ils présentent avec les bacilles du Hog-Cholera et ceux des empoisonnements par la viande, des ressemblances frappantes qui ont tout de suite attiré l'attention des bactériologistes. Elles ont été relevées et précisées au point de vue des caractères microscopiques, culturels et d'agglutination par Smith et Reagh, par von Drigalski ⁴, par Trautmann ⁵. Smith et Reagh ont noté en outre, comme commune à tout ce groupe de bactéries, la propriété de faire fermenter le dextrose avec production d'un abondant dégagement de gaz constitués par un mélange d'hydrogène et d'acide carbonique. Pour Trautmann ⁶, l'empoisonnement typique par la viande est la forme subaiguë, le paratyphus la forme suraiguë, d'une infection qui dans son étiologie est une et due aux bacilles d'une même famille ⁷.

1. POUCHET, Bactériologie appliquée à la médecine légale. *Annales d'hygiène publique*, 1878, p. 209.

2. GWYN, *John Hopkins Hospital Bulletin*, 1898, vol. IX, p. 54.

3. CUSHING, *John Hopkins Hospital Bulletin*, 1900, vol. XI, p. 156.

4. Voir pour la Bactériologie des Paratyphiques, KAYSER, *Centralbl. für Bakt. I. Origin.* T. XXXV, nov. 1903.

5. SMITH et REAGH, *Journ. of. med. Research.* T. IX, 1903.

6. VON DRIGALSKI, *R. Koch's Zeitschrift.*, p. 404-409.

7. TRAUTMANN, *Zeitschrift für. Hyg.*, nov. 1903.

8. TRAUTMANN, *Zeitschrift für. Hyg.*, février 1904.

9. D'après REED et CARROLL (cité par Nocard et Leclainche, v. sup.), le B. icte-

Si le même agent infectieux peut produire la pneumo-entérite du porc, la gastro-entérite et l'infection paratyphique humaine, il ne sera plus suffisant de surveiller les viandes à l'abattoir. Comme il se trouve en abondance dans les fèces des animaux malades, on devra s'attendre à le voir envahir la ferme et de là se répandre avec le lait, avec les eaux de surface qui vont souiller les sources prochaines, etc., pour propager au loin la contagion. Un problème nouveau d'hygiène surgit qui sollicite l'attention des vétérinaires et des médecins. Etant donné son importance et le caractère délicat des mesures que sa solution peut entraîner on ne saurait serrer de trop près la question de l'identification ou de la différenciation des germes en cause : c'est à nos connaissances sur ce point que je vais m'efforcer d'apporter une contribution.

II

En octobre 1904, j'ai été appelé à expertiser les restes d'un jambonneau incriminé à l'occasion d'accidents graves survenus dans une commune voisine du Havre, à Graville-Sainte-Honorine; j'en ai isolé un bacille que j'ai pu caractériser comme cause probable des accidents. Je donnerai la description de ce

roïdes de Sananelli, et d'après Schottmüller (cité par Trautmann, v. sup.), l'agent infectieux dans nombre de cas de choléra-nostras, seraient des bacilles du même groupe.

1. Le 23 octobre, la famille M... a mangé, à son repas du soir, une partie d'un jambonneau acheté le matin même au marché du Havre. La femme M..., 43 ans; son fils Arsène, 20 ans; son fils Albert, 11 ans; sa fillette Yvonne, 4 ans; ont mangé du jambonneau : ils ont été pris, dans la matinée du 24, de douleurs de ventre avec frisson, puis de vomissements et d'une diarrhée profuse qui s'est montrée particulièrement grave et persistante chez la femme M... et sa fillette Yvonne. La femme M... est restée alitée jusqu'au 5 novembre. Un sieur L... pensionnaire de la famille M..., n'a pas mangé de jambonneau le 23 octobre, il en a mangé le 24 à son repas du soir : le 25 au matin, il se rend à son travail, mais vers huit heures du matin il commence à avoir mal à la tête, peu de temps après il ressent des coliques, puis de fréquents besoins d'aller à la selle : la diarrhée devenue rapidement profuse a duré 48 heures. Lorsque le docteur Desmontils, à l'obligeance duquel je dois ces renseignements, vit L... pour la première fois, le 26 octobre au matin, alors qu'il commençait déjà à aller mieux, il lui trouva les traits tirés, le nez pincé, la voix éteinte, le pouls faible et précipité. Le malade ne put reprendre son travail que le 5 novembre.

Le sieur M..., 50 ans; sa fille Juliette, 4 ans; et une demoiselle L..., 27 ans, ont partagé les repas de la famille le 23 et le 24 octobre, mais n'ont pas mangé de jambonneau; aucun d'eux n'a été malade.

microbe en m'attachant surtout à l'étude de ses fonctions biochimiques et des relations qui existent, au point de vue desdites fonctions entre lui et les organismes que nous avons précédemment envisagés : *B. Enterditi*s, *B. Paratyphique*, *B. du Hog-Choléra*.

Pour exposer l'origine de mes recherches et le résultat de mes premières constatations, je ne saurais mieux faire que de reproduire, par extraits, le rapport que j'adressai à M. Jacquot, juge d'instruction, qui m'avait commis.

.

« Le 31 octobre 1904, j'ai reçu de M. le commissaire de police de Graille un échantillon de jambonneau saisi le 28 octobre chez les époux M... et j'ai procédé à son analyse.

Au moment où il m'est remis, le jambonneau est en partie envahi par les moisissures, il a pris la teinte brune des viandes halées, il a l'odeur de saumure propre au jambonneau frais, avec une pointe de moisi.

Pour vérifier la toxicité, j'ai pris environ 5 grammes de jambonneau, je les ai broyés dans 10 grammes d'eau stérile, le liquide a été ensuite séparé par filtration. 2 grammes de liquide filtré inoculés à un cobaye, sous la peau, ont amené la mort en moins de 24 heures; une souris qui avait reçu, sous la peau, 1/2 gramme du même liquide est morte en 18 heures.

L'analyse bactériologique m'a permis d'isoler :

1° Du jambonneau lui-même;

2° Du sang du cobaye mort.

Un microbe qui, cultivé à l'état pur, tue le cobaye avec les lésions même produites par le liquide de broyage du jambonneau.

.

Je me suis proposé de rechercher si le sang des membres de la famille M... et du sieur L... se montrerait agglutinatif vis-à-vis du microbe que j'ai isolé du jambonneau et auquel j'attribue son action nocive. Comme contrôle, j'ai examiné au même point de vue le sang fourni par 12 personnes différentes.

Le résultat de ces essais est consigné ci-dessous.

Femme M.	{	Sang recueilli le	7 novembre	agglutine à	1/200
		— —	18 —	—	à 1/100
		— —	26 —	—	à 1/100
Yvonne M.	{	Sang recueilli le	7 novembre	agglutine à	1/500
		— —	26 —	—	à 1/50
L.....	{	Sang recueilli le	29 novembre	agglutine à	1/50

Des 12 échantillons de sang que j'ai examinés comme contrôle, aucun ne s'est montré agglutinant même à la dose de 1 pour 25.

De ces constatations, en particulier de l'existence d'un pouvoir agglutinant élevé dans le sang de la femme M... et de sa fillette Yvonne (qui au dire des témoins ont été les plus gravement atteintes) je tire la conclusion que les accidents survenus chez ces malades sont bien dus à l'ingestion du jambonneau qui a été soumis à mon expertise.

Cette conclusion est d'ailleurs corroborée par l'ensemble des circonstances qui ont accompagné l'empoisonnement (nature et évolution des symptômes : les personnes qui ont partagé le repas de la famille le dimanche soir, mais n'ont pas mangé de jambonneau n'ont pas été malades, etc.); elle est conforme à l'opinion émise dès l'origine par les docteurs Bellest et Desmontils, qui ont été appelés à soigner les malades.

Le microbe tiré du jambonneau, bacille H, se présente sous la forme d'un bâtonnet dodu, long de 1.5 à 3 μ . Dans les cultures jeunes, en bouillon, il est en articles isolés ou réunis par deux, il ne donne pas de longs filaments. Il est mobile et possède des cils assez nombreux (6 à 10) répartis sur tout son pourtour. Il se colore bien par toutes les couleurs d'aniline et ne prend pas le Gram. Il ne donne pas de spores.

En bouillon, le bac. H, se développe bien à la température de 33° sans manifester grande tendance à former des voiles superficiels; au bout d'un jour ou deux, ses cultures dégagent une odeur spéciale très nette, ne rappelant en rien l'odeur fécaloïde des cultures de *B. coli*. Il ne produit pas d'indol.

Sur gélatine, les colonies sont transparentes, découpées, assez semblables à celles du *B. typhique*; par piqûre il donne une culture assez épaisse en surface et qui se prolonge le long de la piqûre où elle prend à la longue une teinte brune; — la gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur gélose en stries, on obtient, au bout de 24 heures à 33°, une culture formant une couche luisante qui plus tard, devient épaisse et crémeuse. Sur pomme de terre la culture se fait bien; elle est assez épaisse, de teinte jaune clair au début, brune plus tard. Le lait constitue un excellent milieu de culture; il n'est jamais coagulé; au bout d'une dizaine de jours d'étuve, il perd son aspect spécial, devient plus clair et d'une teinte jaune pâle, il est alors très alcalin.

Le bacille H pousse bien sur les milieux additionnés de cristal violet et je me suis très avantageusement servi, pour sa recherche dans les selles, d'une gélatine ayant la composition suivante :

Bouillon Martin neutre.....	1000
Gélatine..	200
Solution de cristal violet à 0 gr. 1 0/0.....	40 c. c.
Lactose.....	20 gr.
Soude à 10 0/0.....	2 c. c.
Tournesol.....	Q. S.

Les colonies qui se développent en surface forment des plaques de couleur violette dont la teinte se maintient longtemps sans tendances à virer au rouge ni au bleu : celles qui poussent en profondeur et gagnent la surface se développent au-dessus d'elle, formant des boutons en saillie qui, vus par transparence, présentent l'aspect de perles brillantes d'une belle teinte violet évêque. Les unes et les autres sont très faciles à distinguer des colonies rouges de *B. coli*.

Ensemencé dans du bouillon Martin neutre étendu de son volume d'eau et additionné d'hydrates de carbone à la dose de 5 0/0, le bac. H. fait fermenter la glycérine, la dulcité, la mannite, le glucose, le galactose, le maltose. La glycérine n'est attaquée que très lentement, sans jamais donner naissance à un dégagement gazeux appréciable; avec les autres hydrates de carbone au contraire, l'attaque est facile, le milieu devient rapidement acide et il se produit un abondant dégagement de gaz.

L'érythrite, le lactose, le saccharose ne sont pas attaqués.

Le maltose, le lactose, étaient purifiés par cristallisation et vérifiés par leurs constantes physiques : comme saccharose, j'ai employé du sucre blanc de la marque Say. Afin d'éviter une hydrolyse possible pendant la stérilisation à l'autoclave, les solutions des bihexoses étaient stérilisées par filtration et ajoutées

ensuite au bouillon : je me suis assuré que le saccharose et le lactose restaient inattaqués, par des dosages à la liqueur de Fehling et au polarimètre effectués sur les liquides déféqués par la méthode de Patein et Dufau¹.

J'ai étudié en détail la fermentation du glucose et de la mannite; mais, comme j'ai étudié aussi au même point de vue les fermentations produites par d'autres microbes (*B. Enteriditis*, *B. du Hog-Cholera*, paratyphique) et que la comparaison des résultats ainsi obtenus constitue la partie la plus importante de mon travail, j'exposerai ces résultats ensemble, plus loin, et je vais dire tout de suite quelle est l'action du bacille H sur les animaux.

Le *cobaye* succombe à l'inoculation sous-cutanée d'une petite quantité de culture en bouillon, de 24 heures. Dès le premier jour, il se forme autour du point d'inoculation un œdème étendu, dur et douloureux au toucher. La température s'élève d'abord, puis s'abaisse au voisinage de la mort, qui survient dans l'hypothermie.

Le 10 décembre 1904, trois cobayes ont été inoculés sous la peau avec une culture en bouillon de 24 heures.

Le cobaye A pesant 375 gr. a reçu 1 goutte de culture.

— B — 450 — 5 gouttes. —
— C — 460 — 20 — —

	A.		B.		C.	
	Temp.	Poids.	Temp.	Poids.	Temp.	Poids.
11 déc. matin...	39.5	330	39.8	395	39.7	405
12 — soir....	40.3	315	mort le 12 à 3 ^h		Trouvé mort le	
13 — matin..	39.5	310	du soir.		12 à midi.	
13 — 3 ^a soir..	38.2	—				
13 — 4 ^a — .	36.2	—				
13 — 6 ^a — .	mort.					

Le 13 décembre, un cobaye pesant 395 gr. a reçu sous la peau 1 goutte du sang du cœur du cobaye A délayée dans un peu de bouillon stérile : il a donné :

	Temp.	Poids.	
14 déc. matin.....	39.3	385	
14 — soir.....	40.0	365	
15 — matin.....	40.5	350	
15 — soir.....	40.6	345	
16 — matin.....	41.0	320	
16 — soir.....	40.7	315	
17 — matin.....	40.7	310	
17 — soir.....	40.6	300	
18 — matin.....	39.0	305	mort le 18 déc. au soir.

1. PATEIN, *C. R. Soc. Biologie*, 1902, p. 1373.

A l'autopsie, les lésions locales sont très prononcées; un œdème étendu, membraneux, fait adhérer la peau à la paroi abdominale, à l'incision, il laisse écouler une sérosité sanguinolente, dans laquelle pullulent les bacilles spécifiques. Les lésions viscérales sont peu accentuées; les intestins, le rein sont peu ou point congestionnés, la rate n'est pas augmentée de volume et garde sa consistance normale. J'ai noté la présence constante d'un épanchement plus ou moins abondant dans le péricarde et souvent aussi de petits infarctus dans les poumons.

Si la quantité de culture inoculée est trop faible, l'animal résiste. L'œdème se produit toujours, mais il se résout en un abcès qui s'ouvre en laissant écouler un pus épais contenant en abondance le bacille H. Sur un cobaye qui avait ainsi résisté, j'ai prélevé, 26 jours après l'inoculation, quelques gouttes de sang, en coupant un peu du pavillon d'une oreille, il agglutinait le bacille H, à 4/150.

Dans le foie, le rein, la rate et dans le sang, les bacilles se trouvent, non très abondants, mais décelables à l'examen microscopique et plus aisément à la culture.

La virulence du bacille a diminué par suite de sa conservation au laboratoire par des repiquages réguliers sur gélose. A l'origine, au mois de novembre 1904, il suffisait d'une goutte de culture pour tuer le cobaye; au mois d'avril 1905 il en fallait 0 c. c. 5, avec des doses moindres, on n'arrivait qu'à produire des abcès.

La *souris blanche* succombe rapidement à l'injection sous-cutanée d'une très petite quantité de culture, elle est sensible aussi à l'infection par les voies digestives.

Ex. Une souris blanche a été nourrie pendant un jour de pain trempé dans une culture en bouillon du bac. H. âgée de 24 heures, puis a été mise dans un bocal sur du grain et a reçu chaque jour un peu de pain trempé dans l'eau.

Deux jours après le repas infectant, l'animal paraît malade; il demeure roulé en boule, le poil hérissé, les yeux collés. Il meurt au bout de 8 jours.

A l'autopsie, on trouve le tube digestif fortement congestionné dans toute son étendue. L'intestin grêle présente par places une teinte hortensia. Le gros intestin est rempli d'un liquide jaune verdâtre d'où la culture sur plaques de gélatine au cristal-violet lactose permet d'isoler facilement le bacille H. La rate est énorme et molle, les reins sont congestionnés.

Les *souris grises* succombent aussi à l'inoculation sous-cutanée, mais j'ai vainement essayé de les infecter par la voie

gastrique en leur faisant manger soit du pain trempé dans une culture, soit les vicères (poumon, cœur, rate) de souris blanches ayant succombé à l'infection. Dans tous les cas les souris grises sont devenues malades, perdant leur vivacité, restant tout le jour roulées en boule; mais, dans tous les cas, aussi, le malaise a été passager et, finalement, elles se sont rétablies.

Le lapin succombe en 24 heures à l'injection intraveineuse de 1 c. c. d'une culture en bouillon.

Chez le *pigeon*, l'injection intra-musculaire d'une petite quantité de culture détermine la formation d'un abcès; avec 1 c. c. on obtient un gros œdème et la mort survient en 10 ou 15 jours.

Le *porc* est sensible à l'injection par la voie intraveineuse et par la voie sous-cutanée.

Ex. Une truie de 4 mois, pesant 26 kilogr., a reçu dans une veine superficielle de la cuisse gauche 1 c. c. 5 d'une culture en bouillon de 24 heures.

Dès le lendemain, l'animal est triste, il refuse de manger, reste blotti, la tête enfouie dans sa litière; peu à peu les symptômes s'amendent et il se rétablit.

Température le 1 ^{er} jour après l'inoculation.				{	matin	41°,1
					soir	41°,1
—	2°	—	—	{	matin	40°,7
					soir	40°,1
—	3°	—	—	{	matin	40°,0
					soir	40°,0
—	4°	—	—	{	matin	39°,7
					soir	39°,6
—	5°	—	—	{	matin	39°,8
					soir	39°,3

Quinze jours après la première injection, j'en fais une seconde, de 4 c. c. de culture, dans une veine superficielle de la cuisse droite; l'animal reste malade pendant quelques jours, puis se rétablit.

Température le 1 ^{er} jour après l'inoculation.				{	matin	41°,5
					soir	41°,7
—	2°	—	—	{	matin	41°,0
					soir	41°,2
—	3°	—	—	{	matin	41°,1
					soir	41°,3
—	4°	—	—	{	matin	40°,7
					soir	40°,8
—	5°	—	—	{	matin	40°,2
					soir	40°,0

Température le 6 ^e jour après l'inoculation	{	matin	39°,9
		soir	40°,0
— 7 ^e —	{	matin	39°,7
		soir	39°,5
— 8 ^e —	{	matin	39°,5
		soir	39°,3

Lors de la 2^e injection, en essayant de pénétrer, à travers la peau, dans une veine de l'oreille, j'ai poussé une petite quantité de liquide, 0 c.c.5, environ, dans le tissu cellulaire entourant le vaisseau. Il s'est fait en ce point et dans la région avoisinante, à la base de l'oreille, un abcès volumineux dont le pus contenait à l'état pur le bac. H.

Le *jeune chat* peut être infecté par la voie gastrique et l'expérience suivante me paraît présenter un intérêt spécial, au point de vue du rôle que sont susceptibles de jouer les microbes analogues à notre bac. H dans les gastro-entérites infectieuses des enfants du premier âge.

Deux petits chats de la même portée pesant respectivement :

Chat blanc	435 gr.
Chat gris	430 —

ont servi à l'expérience, le second comme témoin.

Le 25 novembre, le chat blanc n'a reçu comme nourriture que du laitensemencé 48 heures auparavant avec le bacille H et conservé depuis lors à l'étuve à 33°, le chat gris a reçu du lait nonensemencé. A partir du lendemain, les deux chats sont abandonnés ensemble et reçoivent tous les deux la même nourriture à discrétion.

Tandis que le chat gris reste bien portant, augmente de poids et se développe normalement, le chat blanc est manifestement malade, il a le poil hérissé et terne, il ne joue pas et passe toute sa journée blotti près du poêle, au lieu d'augmenter de poids il diminue. Dès le 26 novembre, le chat blanc a été atteint d'une diarrhée très prononcée, qui a persisté pendant trois semaines, puis s'est amendée pour disparaître progressivement. C'est seulement à partir de ce moment que l'animal a commencé à reprendre des forces, son poids a augmenté, l'aspect général est devenu meilleur, mais deux mois après le début de l'expérience, il se trouvait encore très en retard vis-à-vis du témoin, non seulement au point de vue du poids, mais encore et surtout au point de vue de la vivacité et de l'exubérance.

	Poids successifs	
	Chat blanc.	Chat gris.
24 novembre avant l'expérience	435	430
25 —	mange du lait ens.	mange du lait normal
26 —	420	440
27 —	405	445
28 —	405	457
29 —	400	465
30 —	402	475

1 ^{er} décembre.....	380	485
7 —	350	497
10 —	345	500
13 —	365	515
16 —	367	540
24 —	425	615
26 —	465	635
29 —	514	677

A deux reprises, le 29 novembre et le 26 décembre, j'ai fait l'étude bactériologique comparative des déjections des deux chats pour y rechercher le bacille H; je ne l'ai pas trouvé dans celle du chat gris; chaque fois, au contraire, je l'ai rencontré dans celles du chat blanc; très abondant le 29 novembre, il y était devenu rare le 26 décembre.

Le 28 décembre, j'ai prélevé du sang sur chacun des deux chats et j'ai essayé le pouvoir agglutinant vis-à-vis du bacille H.

Sang du chat gris n'agglutine pas, même à 1 pour 25.
Sang du chat blanc agglutine à 1 pour 250.

III

Exp. I. — Pour étudier les produits formés pendant la destruction du glucose, j'ai mis en culture huit ballons contenant chacun, sur une quantité suffisante de craie, un litre de bouillon (bouillon Martin étendu de son volume d'eau) additionné de 25^{gr}47 de glucose. Les ballons étant mis à l'étuve à 33°, dès le lendemain tous sont le siège d'un dégagement gazeux abondant; ils donnent tous une odeur nette d'hydrogène sulfuré et un papier imprégné d'acétate de plomb, qu'on expose à leur orifice, se colore en noir. Le dégagement gazeux et l'odeur d'hydrogène sulfuré persistent en s'affaiblissant pendant une dizaine de jours; au bout de quinze jours, les ballons sont repris. Après addition d'un peu de chaux vive pour faire passer à l'état de sel de chaux les acides qui peuvent avoir été saturés par l'ammoniaque formée dans la culture, le liquide est distillé. Après une deuxième distillation en présence d'acide phosphorique pour éliminer l'ammoniaque, plusieurs distillations successives et en dernier lieu une rectification sur de la chaux vive, j'obtiens quelques c. c. d'un liquide bouillant à 70° qui, traité par l'iode et la potasse, fournit un abondant dépôt d'iodoforme et donne sous l'action de l'acide acétique anhydre, l'odeur caractéristique de l'éther acétique : deux dilutions dans l'eau essayées au compte-gouttes de Duclaux ont donné :

Densité.	Nombre de gouttes trouvé.	Nombre de gouttes prévu pour l'alcool éthylique.
0.987	143	144.5
0.989	137	137.5

On a donc affaire à de l'alcool éthylique : les premières gouttes qui passent à la rectification donnent une légère réaction d'aldéhyde à la fuchsine bisulfitée.

La totalité de l'alcool formé dans les cultures, évalué d'après la densité d'une solution aqueuse, représente 29^{gr}98.

Dans le liquide résiduel obtenu après distillation de l'alcool, j'ai dosé la chaux dissoute et je l'ai précipitée par une quantité juste suffisante d'acide oxalique¹. Après filtration de l'oxalate de chaux, j'ai entraîné les acides volatils par la vapeur d'eau en rajoutant de l'eau et recommençant la distillation jusqu'à entraînement complet. L'acide volatil recueilli a été saturé par la carbonate de baryte, une partie de la solution barytique a été, après acidification par l'acide phosphorique et filtration, soumise à la distillation fractionnée; l'autre, évaporée, a fourni un sel qui a fourni à l'analyse le résultat suivant :

BaO pour 100 de sel anhydre.	{ Trouvé.....	59.85
	{ Calculé pour (C ² H ³ O ²) ² Ba.	60.0

La distillation fractionnée a donné :

	Trouvé.	Théorique pour l'ac. acétique.
1 ^{re} prise.....	6.0	5.9
2 ^e —	12.2	12.2
3 ^e —	18.8	18.7
4 ^e —	23.8	25.6
5 ^e —	32.7	32.7
6 ^e —	40.5	40.4
7 ^e —	48.6	48.7
8 ^e —	57.5	57.5
9 ^e —	67.5	67.5
10 ^e —	80.0	80.0

L'acide est de l'acide acétique, la quantité qui a pris naissance dans les cultures représente 12^{gr}90.

Le résidu de la distillation des acides volatils est concentré et les acides fixes extraits par l'éther; celui-ci, évaporé, laisse un liquide sirupeux dans lequel se forme rapidement une masse de cristaux légers, présentant l'aspect caractéristique des cristallisations d'acide succinique.

Les cristaux séparés sur un filtre, lavés à l'éther, fondent à 180°; ils commencent à se volatiliser sans fondre dès 140°.

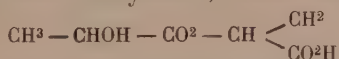
Dissons dans l'eau, ils fournissent une solution acide qui est saturée par le carbonate de chaux et évaporée. Le sel de chaux obtenu, desséché à 100°, puis brûlé, donne :

CaO pour 0/0 de sel anhydre.	{ Trouvé.....	35.78
	{ Calc. pour $C^4H^4O^4Ca$	35.89

L'acide cristallisé est de l'acide succinique.

Le liquide acide filtré est une solution très concentrée d'acide lactique contenant encore une certaine proportion d'acide succinique.

Les acides lactique et succinique se trouvent fréquemment associés dans les produits de fermentation. Pour les séparer, la meilleure méthode est celle employée par MM. Gayon et Dubourg¹, elle consiste à concentrer, puis à abandonner plusieurs jours dans une atmosphère sèche l'extrait éthéré qui contient les acides fixes, on recueille sur un filtre les cristaux d'acide succinique qu'on débarrasse des dernières traces d'acide lactique par lavages à l'eau glacée, saturée d'acide succinique. En opérant ainsi, on peut craindre que si l'acide succinique est trop peu abondant, il n'arrive pas à former des cristaux et passe inaperçu et qu'en tout cas une petite quantité reste toujours dissout dans l'acide lactique. Il semblerait qu'il faille craindre aussi les phénomènes d'éthérification : lorsqu'il est maintenu dans une atmosphère sèche, à la température ordinaire, alors même qu'il contient encore un peu d'eau, l'acide lactique se change peu à peu en un anhydride, l'acide lactyllactique



masse solide, jaune clair, à peine soluble dans l'eau, qui pourrait rester sur le filtre avec l'acide succinique. Malgré cela, l'acide succinique ayant été reconnu qualitativement, j'ai eu recours à cette méthode pour la séparation et le dosage : le second des inconvénients théoriques signalés ne s'est certainement pas produit, car, dans tous les cas, les cristaux recueillis étaient de l'acide succinique pur.

L'acide lactique a été caractérisé à l'état de sels de chaux et de zinc purifiés par cristallisation.

Sel de chaux. Desséché à 100°, brûlé. CaO p. 0/0 de sel.	{ Trouvé.....	25.75
	{ Calc. p. $(C^3H^5O^3)^2Ca$	25.68

1. La recherche des acides fixes et des acides volatils a été faite sur une fraction seulement du liquide total.

Sel de Zn. Desséché à 50°.	{ Trouvé.....	13.2
Perte d'eau à 160°.	{ Calc. p. lact. actif.....	12.9

Le sel de zinc, dissous dans l'eau, possède un pouvoir rotatoire droit

$$\alpha_D = + 6^{\circ}04$$

L'acide lactique et ses sels déviant en sens inverse, nous avons donc affaire à l'*acide gauche*.

Le bilan de la fermentation, abstraction faite des produits gazeux qui n'ont pas été recueillis, s'établit ainsi :

Sucre consommé.....	203 ^{gr} ,76
Alcool éthylique.....	25 ^{gr} ,98
Acide acétique.....	12 ^{gr} ,90
Acide lactique gauche.....	118 ^{gr} ,80
Acide succinique.....	13 ^{gr} ,65

EXP. II. — Dans un ballon de 1,500 c. c. j'ai mis 800 c. c., d'un liquide de culture constitué par du bouillon Martin étendu de son volume d'eau et contenant en outre 26^{gr} 82 de glucose. Après stérilisation et ensemencement avec le bacille H, je l'ai fermé par un bouchon de caoutchouc que traversaient deux tubes de verre. L'un des tubes *a*, deux fois recourbé à angle droit, plonge dans la cuve à mercure; l'autre, *b*, sert à faire le vide avec la trompe à eau d'abord, puis avec une pompe à mercure. Le vide étant fait et le tube *b* scellé à la lampe, le ballon est placé dans un bain-marie chauffé à 33°.

Dès le lendemain, le liquide de culture est le siège d'un vif dégagement gazeux. Cinq jours après, la fermentation paraît complètement arrêtée, la pression à l'intérieur du ballon est, à ce moment encore, inférieure à la pression atmosphérique, le mercure s'élève de 14 cent., dans le tube *a*. Je termine l'expérience en extrayant les gaz avec la pompe à mercure et en procédant à leur analyse, ainsi qu'à celle des produits restés en solution.

Les gaz recueillis contiennent de l'acide carbonique; après absorption de celui-ci par la potasse, le résidu peut être entièrement brûlé dans l'eudiomètre, et cela sans donner naissance à de l'acide carbonique; il est constitué par de l'hydrogène pur.

Dans le liquide j'ai trouvé de l'alcool éthylique, caractérisé

après distillations successives par la méthode du compte-gouttes et par la réaction de l'iodoforme, de l'acide acétique caractérisé par la méthode de Duclaux; de l'acide lactique gauche et de l'acide succinique : en tout.

	En poids.
Hydrogène..... 349 c. c. En vol. à 0° et à 760.	0.027
Acide carbonique..... 321 c. c.....	0.609
Alcool.....	0.304
Ac. acétique.....	0.270
Ac. lactique gauche.....	2 750
Ac. succinique.....	0.180
Sucre consommé.....	4 ^{sr} 110

EXP. III. — Quatre ballons ont reçu chacun 500 c. c. d'un liquide de culture formé de bouillon Martin étendu de son volume d'eau et contenant, pour 100, 4^{gr}, 77 de glucose; plus 20 grammes de craie. Ils sont, après stérilisation, ensemencés de bacille H et mis à l'étuve à 33°, avec un dispositif qui permet de recueillir séparément l'hydrogène et l'acide carbonique dégagés. Pour cela, le ballon est fermé par un bouchon de caoutchouc traversé par un tube de verre qui se rend dans un barboteur à potasse : les gaz, après avoir traversé ce premier, puis un second barboteur sont recueillis sur la cuve à mercure. La totalité de l'acide carbonique est arrêtée par les solutions de potasse; on le mesure en dosant avant et après l'expérience, la proportion d'alcali carbonaté. L'hydrogène se trouve mélangé d'une certaine quantité d'azote provenant de l'air, qui au début remplissait l'espace libre du ballon, l'oxygène a complètement disparu; absorbé par la culture. Pour pouvoir établir un bilan complet, il faut, à la fin de l'expérience, extraire avec la pompe les gaz libres ou dissous qui restent dans le ballon.

Les autres produits de la fermentation ont été isolés et caractérisés en suivant la technique indiquée à propos des expériences I et II : le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus.

	I.	II.	III.	IV.
Durée de la cult.....	3 jours	8 jours	12 jours	30 jours
Hydrogène (en vol.)...	360 ^{cc}	320 ^{cc}	366 ^{cc}	300 ^{cc}
Acide carbon. (en vol.)...	522	783	860	922
Alcool éthylique.....	0 ^{sr} 74	1 ^{sr} 35	1 ^{sr} 49	1 ^{sr} 62
Acide acétique.....	0.96	0.87	1.16	1.42
Acide lactique.....	6.39	9.30	12.73	16.98
Acide succinique.....	0.35	0.70	1.30	1.90
Sucre détruit.....	9.62	11.94	18.40	23.85

L'acide lactique était dans tous les cas de l'acide gauche.

EXP. IV. — Deux fermentations ont été mises en train et étudiées comme il a été dit pour l'exp. I, mais le glucose était remplacé dans un cas (A) par 25 grammes de mannite, dans l'autre (B) par 25 grammes de glycérine.

La fermentation de la mannite a donné lieu à un abondant dégagement de gaz entraînant un peu d'hydrogène sulfuré nettement décelable à l'odeur et au papier d'acétate de plomb : celle de la glycérine s'est poursuivie sans dégagement gazeux appréciable à l'œil¹.

Essai A.

Durée de la culture.....	42 jours
Alcool éthylique.....	3 ^{sr} 26
Acide acétique.....	0 ^{sr} 39
Acide lactique gauche.....	11 ^{sr} 90
Acide succinique.....	1 ^{sr} 80

Essai B.

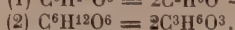
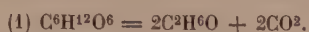
Durée de la culture.....	44 jours
Alcool éthylique.....	0 ^{sr} 15
Acide acétique.....	0 ^{sr} 70
Acide lactique.....	1 ^{sr} 90
Acide succinique.....	traces

Dans ce qui précède, nous avons étudié d'une façon complète la fermentation du glucose ; il y a lieu de nous demander s'il nous serait possible d'arriver à concevoir son mécanisme et à interpréter la formation des divers corps dont l'analyse nous a révélé la présence. Nous ne chercherons pas à établir une équation compliquée contenant dans son premier membre un nombre plus ou moins grand de molécules de glucose et dans le second les produits divers auxquels sa décomposition donne naissance. Duclaux a montré tout ce qu'avaient d'artificiel de pareilles formules auxquelles on ne saurait attribuer qu'une valeur mnémotechnique. Nous nous efforcerons, au contraire de nous représenter la fermentation dans son ensemble comme la résultante d'un certain nombre d'actions élémentaires, correspondant chacune à une fonction diastasique ou biochimique du protoplasme qui se superposent en proportions variables, suivant les diverses périodes de la vie du ferment.

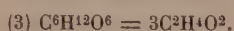
Pour l'acide lactique, l'alcool et une partie tout au moins de l'acide carbonique, le plus vraisemblable, dans l'état actuel de la science, est de considérer qu'ils dérivent de l'action d'une dias-

1. Abstraction faite de l'acide carbonique mis en liberté par la saturation des acides.

tase s'exercant directement sur la molécule de glucose et la dédoublant conformément à l'une des deux équations.

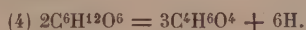


L'acide acétique pourrait provenir d'un dédoublement diastatique analogue, s'effectuant selon l'équation.



Mais, tandis que l'existence de diastases capable d'effectuer les transformations (1) et (2) est établie avec certitude, il n'en est plus de même pour la troisième. Non seulement l'existence d'une diatase correspondant à la réaction (3) n'est pas certaine, mais encore on ne connaît aucun ferment figuré détruisant le glucose pour produire l'acide acétique avec de gros rendements qui éveillent l'idée d'un phénomène diastatique, comme il arrive pour la fermentation lactique. Duclaux ¹ considère l'acide acétique que l'on rencontre toujours parmi les produits sécrétés par la levure de bière comme résultant d'une action non diastatique, mais protoplasmique. Cela revient à dire que les atomes de carbone d'hydrogène et d'oxygène qui constituent la molécule d'acide acétique ont fait à un moment donné partie d'un édifice moléculaire appartenant au protoplasma et se sont groupés de façon à constituer la molécule $\text{CH}^3\text{CO}^2\text{H}$ au moment où cet édifice s'est détruit. Malheureusement les expériences faites, qui consistent à doser les corps présents à un moment donné dans le liquide de culture, ne sauraient nous fournir d'indications précises sur la nature des états intermédiaires par lesquels ces corps ont pu dériver du sucre, à l'intérieur de la cellule,

Théoriquement l'acide succinique et l'hydrogène pourraient être produits simultanément par dédoublement de la molécule de glucose selon l'équation



mais les résultats de l'expérience III ne permettent pas de s'arrêter à cette conception. Ils montrent, en effet, que la production d'hydrogène est limitée aux premiers jours de la culture, tandis que l'acide succinique se produit tant que dure celle-ci. D'un autre côté, aux termes de l'équation (4), la formation de 1 gramme d'hydrogène correspond à celle de 59 grammes d'acide succinique; les 0^{gr},032 d'H formés au bout de 3 jours

¹ *Traité de microbiologie*. T. III, p. 413.

correspondraient à $1^{\text{gr}},88$ de $\text{C}^4\text{H}^6\text{O}^4$; or, nous en trouvons à ce moment $0^{\text{gr}},35$. Nous envisagerons donc les deux corps comme ayant deux origines différentes. Pour l'acide succinique, dans le cas de la levure de bière, Duclaux ¹ admet une origine protoplasmique au même titre que pour l'acide acétique; on pourrait considérer que les deux acides proviennent des mêmes édifices moléculaires, qui se disloqueraient de façon à donner de l'acide acétique, et en présence d'oxygène assez faiblement combiné (le ferment H est un réducteur énergique, ainsi qu'en témoigne la production de H_2S par réduction du peu de sulfate de chaux contenu dans la craie) de l'acide succinique par soudure de deux molécules.



Nous avons admis que l'alcool résultait d'un dédoublement du sucre selon la formule (1). Si nous comparons les quantités d'acide carbonique qui, d'après cette formule, correspondraient à l'alcool trouvé, à celles qui ont été effectivement dosées dans les expériences II et III, nous voyons que celles-ci sont beaucoup plus fortes. Une partie de l'acide carbonique a donc une autre origine que la fermentation (1).

Le tableau ci-dessous résume, au point de vue des gaz produits, les résultats des expériences II et III.

La col. A contient, exprimé en cent. c. le vol. de CO^2 formé.
 B — — — de CO^2 qui d'après l'équation (1) correspond à l'alcool formé.
 C — — — $\left\{ \begin{array}{l} a. \text{ La diff. des vol. des col. A et B.} \\ b. \text{ Le volume de H formé.} \\ c. \text{ Le rapport des vol } \frac{a}{b}. \end{array} \right.$

	A	B	C		
	—	—	a	b	c
Exp. II	321	147	174	349	2.0
— III. Ballon I..	522	358	164	360	2.2
— — — II..	783	650	133	320	2.4
— — — III..	860	720	140	366	2.6
— — — IV..	922	786	136	300	2.2

Les rapports de la colonne C coïncident, aussi exactement qu'on peut l'espérer, je crois, dans des expériences de ce genre, avec ceux qui correspondraient à l'équation



qui exige 2 volumes d'H pour 1 de CO^2 . La concordance est

1. DUCLAUX, *Loc. cit.*, chap. XXII.

rigoureuse dans le cas de l'expérience II, où les gaz ont pu être extraits sans cause d'erreur.

Tout se passe donc comme si une certaine quantité de sucre était brûlée conformément à la formule (5). Cette transformation, qui exige la décomposition de six molécules d'eau, est fortement exothermique. Quels que soient les groupements moléculaires par lesquels passent les atomes, après avoir cessé de former une molécule de glucose, et avant de se retrouver à l'état d'acide carbonique et d'hydrogène, la nature et la succession de ces groupements n'ont aucune influence sur le rendement thermique. La décomposition d'une molécule de sucre absorbera toujours 150 calories; l'énergie correspondante devra être fournie par des réactions cellulaires exothermiques concomitantes. On s'explique ainsi que la production d'hydrogène soit limitée aux premiers jours de la culture; à ce moment, les réactions exothermiques (1) et (2) s'accomplissent vivement au sein de la cellule jeune. Les six molécules d'eau qui entrent dans la fermentation doivent se retrouver parmi les produits de celle-ci, dont le poids sera, par conséquent, supérieur à celui du sucre mis en œuvre. En considérant à ce point de vue les résultats de l'expérience I, nous trouvons que l'ensemble des produits dosés représente 4^{gr},28 pour 4^{gr},11 de sucre détruit.

IV

Comparativement au bacille H, j'ai essayé l'action sur les hydrates de carbone des microbes suivants :

- 1^o *Bac. enteriditis* de Gaërtner;
- 2^o *Bac. Paratyphique* (v. Drigalski);
- 3^o *Bac. du Hog-Cholera*.

Les semences provenaient des collections de l'Institut Pasteur, je les dois à l'obligeance de mon ami Binot.

Tous ces microbes sont des bâtonnets mobiles, de dimensions semblables, munis de cils sur tout leur pourtour, se colorant bien par toutes les couleurs d'aniline, ne prenant pas le gram; leur aspect microscopique, leurs cultures en bouillon, sur gélatine et sur gélose, sur pomme de terre, dans le lait, ne se distinguent par aucun caractère essentiel; à noter cependant que, dans le bouillon, le *Bac. enteriditis* manifeste

une tendance plus marquée à former un voile superficiel et que le Bac. du Hog-Choléra est celui qui donne les cultures les moins rapides et les moins abondantes.

Ensemencés dans du bouillon Martin, étendu de son volume d'eau et additionné d'hydrates de carbone à la dose de 5 0/0, ils font fermenter le maltose, le glucose, le galactose, la mannite, la dulcité, la glycérine; avec la glycérine l'attaque est lente, surtout pour le Hog-Choléra et le Paratyphique, elle ne donne jamais lieu à un dégagement gazeux appréciable à l'œil; avec les autres corps elle est au contraire très active, le liquide de culture prend rapidement une réaction acide, et il se produit un vif dégagement de gaz constitués par un mélange d'acide carbonique et d'hydrogène. L'érythrite, le lactose, le saccharose ne sont pas attaqués.

EXP. V. — J'ai mis à fermenter, dans des conditions identiques, qui étaient celles de l'expérience III, quatre ballons ensemencés l'un avec le bacille H, les autres avec chacun des trois autres microbes. L'étude des gaz et des autres produits formés a été faite comme il a été dit pour les expériences I et III. Dans les quatre ballons, le dégagement d'hydrogène, rapide au début, était complètement arrêté dès la fin du second jour. Au moment où elles ont été prélevées pour l'analyse, toutes les cultures dégageaient un peu de H²S appréciable à l'odeur et au papier d'acétate de plomb. Les résultats de l'expérience sont consignés dans le tableau ci-dessous.

	Bac. H.	<i>B. enterid.</i>	B. Hog-Chol.	B. parat.
Durée de la fermentat.	5 jours	8 jours	6 jours	7 jours
Hydrogène (en vol.)..	300 ^{cc}	370 ^{cc}	290 ^{cc}	280 ^{cc}
Acide carbon. (en vol.)..	630	922	454	639
Alcool éthylique	1 ^{sr} 05	1 ^{sr} 57	0 ^{sr} 65	1 ^{sr} 10
Acide acétique.....	0 ^{sr} 85	0 ^{sr} 87	1 ^{sr} 05	0 ^{sr} 90
Acide lactique.....	7 ^{sr} 02	10 ^{sr} 25	6 ^{sr} 33	10 ^{sr} 16
Acide succinique.....	0 ^{sr} 54	1 ^{sr} 11	0 ^{sr} 42	1 ^{sr} 02
Sucre consommé.....	10 ^{sr} 56	15 ^{sr} 70	9 ^{sr} 34	14 ^{sr} 62

L'acide lactique était dans tous les cas de l'acide gauche : les sels de zinc ont donné :

	Perte d'eau p. o/o à 160°.	Pouv. rot. an pour le sel hydraté.
Bac. H.....	13.0	+ 6°0
<i>Bac. enteriditis</i>	13.2	+ 6°1

Bac. Hog-Choléra.....	13.0	+ 6°3
Bac. paratyphique	13.1	+ 5°9

Exp. VI. — Les deux essais suivants ont été faits sur le B. Enteriditis, dans les conditions de l'expérience I, l'un (A) avec du glucose, l'autre (B) avec de la mannite.

Essai A.

Durée de la fermentation	8 jours
Glucose mise en œuvre.....	43 ^{sr} 8
Glucose consommé.....	29 ^{sr} 17
Alcool éthylique	0 ^{sr} 21
Acide acétique.....	0 ^{sr} 69
Acide lactique.....	26 ^{sr} 18
Acide succinique	1 ^{sr} 90

Essai B.

Durée de la fermentation	19 jours
Mannite mise en œuvre.....	25 ^{sr}
Alcool éthylique	2 ^{sr} 08
Acide acétique.....	0 ^{sr} 78
Acide lactique	13 ^{sr} 07
Acide succinique	0 ^{sr} 67

L'examen des tableaux qui précèdent montre que les quatre microbes envisagés attaquent le glucose et le décomposent suivant une formule très spéciale, qui se retrouve exactement la même pour tous : de là découle pour eux un nouvel, et je crois important, élément d'assimilation. C'est la conclusion que j'ai surtout voulu tirer de cette étude.

V

Si nous ajoutons aux analogies existant entre les bacilles des groupes du B. *Enteriditis* du B. du Hog-Choléra et du Paratyphique, relevées par les auteurs que j'ai cités au début de ce mémoire, celles qui résultent des faits que je viens de signaler, il semble bien qu'elles deviennent assez nombreuses et assez étroites pour mériter d'être traduites dans le langage courant. On pourrait constituer pour tous ces microbes un groupe, dans lequel viendraient certainement se ranger encore un certain nombre d'autres bactéries actuellement éparées dans la science au hasard des circonstances dans lesquelles elles ont été décrites, et leur réserver le nom générique de *Salmonella* déjà proposé par Lignières pour les bacilles du Hog-Choléra.

Dans la pratique, il faudra se préoccuper désormais des maladies, enzootiques ou épizootiques, qui peuvent sévir sur le bétail de la région, toutes les fois qu'il s'agira de remonter à la cause, non seulement d'infections alimentaires, mais encore d'épidémies à allure typhique. C'est à la campagne que les infections de l'homme par l'animal doivent être le plus faciles : or on sait que les cas de fièvre typhoïde sont proportionnellement plus nombreux dans les campagnes que dans les villes, on sait aussi avec quelle persistance ils se reproduisent dans certaines fermes, à intervalles variables, sans liaison saisissable des uns aux autres. Il n'est pas téméraire de penser que bien des fois, on a pu classer, comme fièvre typhoïde, les accidents paratyphiques dont le germe, entretenu par une maladie enzootique du bétail et répandu journellement sur le sol avec les excréments des animaux malades, produit de loin en loin, au hasard des circonstances favorables, les infections humaines. La clinique est souvent insuffisante pour établir le diagnostic ferme de la fièvre typhoïde, il faut avoir recours à la réaction de Widal ou mieux encore isoler l'agent pathogène, et ni l'un ni l'autre de ces deux éléments d'information ne sont encore entrés dans la pratique courante. Quoi qu'il en soit, on peut dire dès maintenant que les infections paratyphiques, en relation possible avec des maladies du bétail, jouent un rôle peut-être important, en tous cas jusqu'à ces derniers temps insoupçonné, dans la pathogénie rurale et aussi par contre coup dans la pathogénie urbaine ; car les apports constants de la campagne à la ville, établissent entre elles par le lait, par les eaux potables, etc., des liens de solidarité absolue. Il y a là un problème nouveau sur lequel il convient que soit désormais éveillée l'attention des hygiénistes.

SUR UNE VARIÉTÉ DE TUBERCULOSE ZOOGLEIQUE

ET DE SES RAPPORTS AVEC LA PSEUDO-MORVE

PAR LE D^r JEAN CAGNETTO

Assistant du professeur A. BONOME, à l'Institut d'anatomie pathologique de Padoue.

(Avec la planche XIV.)

M. Preisz¹, le premier, a essayé de mettre de l'ordre dans les maladies infectieuses désignées sous le nom de pseudo-tubercules bacillaires ; il les a distinguées en trois catégories, mais cette division ne correspond plus à l'état de nos connaissances sur le sujet.

En effet, M. Preisz a décrit :

1^o Une *Pseudotuberculosis rodentium* dont l'agent spécifique a été très bien étudié par Pfeiffer² ;

2^o Une *Pseudotuberculosis murium* de M. Kutscher³ ;

3^o Une *Pseudotuberculosis ovis* de MM. Preisz et Guinard⁴.

M. Preisz s'est trouvé, malgré lui, obligé de faire de la *Pseudotuberculosis murium* un type spécial, bien distinct de la *Pseudotuberculosis rodentium* avec laquelle, selon l'ordre zoologique, elle devrait être naturellement fondue. Mes recherches tendent à démontrer qu'une classification des divers types de pseudo-tuberculose microbienne, établie comme celle de M. Preisz, d'après les espèces animales qui en sont originairement frappées, n'est pas sans inconvénients, lorsqu'elle tend à faire croire qu'à chacune des variétés zoologiques indiquées correspond un genre déterminé d'infection pseudo-tuberculeuse, ce qui, comme j'aurai l'occasion de le montrer, n'est pas absolument d'accord avec les faits.

Depuis 1896, aux types de pseudo-tuberculose microbienne déjà connus, sont venus s'en joindre d'autres qui ne peuvent rentrer dans les catégories de M. Preisz.

1. *Ergebnisse d. allg. Aetiologie, etc.* Lubarsch et Ostertag, 1896, p. 732.

2. *Ueber die bacillare Pseudotuberculose bei Nagethieren.* Leipzig, 1889.

3. *Zeitschrift f. Hygiene.* Bd. XVIII, 1894, H. 2, p. 327.

4. *Journal de méd. vét. et de zootechn.* T. XVI, 1891, p. 563.

Si l'on voulait faire à présent un tableau synoptique des pseudo-tuberculoses, il faudrait ou augmenter le nombre des variétés en ajoutant des formes nouvelles (comme, par exemple, cette pseudo-tuberculose, certainement particulière à l'homme, qui fut récemment étudiée avec soin par M. Wrede¹), ou adjoindre aux trois types fondamentaux de M. Preisz des sous-espèces, tout en acceptant l'ordre zoologique, mais sans tenir compte de l'étiologie.

Ce que je tiens surtout à faire remarquer, c'est l'existence de certains caractères communs entre certains virus pseudo-tuberculeux et d'autres en apparence entièrement différents. Cette affinité se manifeste par certaines propriétés pathogéniques et la ressemblance du *processus anatomo-pathologique qu'ils provoquent chez les animaux sensibles*; elle me paraît n'avoir encore été bien mise en relief par aucun observateur.

Je veux parler de quelques-unes de ces maladies infectieuses que M. Kitt² rassemble sous la dénomination de *pseudo-morve*, et qu'il appelle ainsi parce qu'elles se manifestent chez les équidés, et par leurs symptômes peuvent faire croire à une infection morveuse. Nous trouvons un exemple de ce genre de maladies pseudo-morveuses dans les anciennes observations de Babès³ qui, de la muqueuse pituitaire de cinq chevaux suspects de morve, réussit à isoler un petit bacille, morphologiquement semblable à celui de la morve, mais qui en différait par quelques caractères culturaux, par la propriété de rester faiblement coloré par la méthode de Gram, et par sa virulence envers le lapin, qu'il tuait en peu de temps avec *une quantité de nodules purulents dans les organes internes*, analogues à ceux que produit sur le même animal l'inoculation du strepto-bacille de la tuberculose zoogléique.

Plus tard, une publication sur le même sujet, fort intéressante par les détails bactériologiques qu'elle contient, nous a été donnée par M. Nocard⁴.

Cet auteur a décrit, comme agent spécifique de la maladie qu'il a nommée lymphangite ulcéreuse des équidés, un bacille

1. Ziegler's Beitrage, Bd. XXXII, 1902, p. 526.

2. Monatshefte f. praktische Thierheilkunde, Bd. VIII, H. 7, 1897, p. 340.

3. Archives de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique, 1891, p. 649.

4. Bulletin de la Société de médecine vétérin., 1893, p. 116, et 1894, p. 92

— Annales de l'Institut Pasteur, 1896, n° 11, p. 609.

court et gros, doué d'un certain polymorphisme, existant dans l'exsudat des ulcères cutanés, en amas ou en chaînettes de courts articles, et capable de provoquer chez le cobaye, par l'inoculation dans le péritoine, *l'apparition de nodules purulents multiples dans les organes*, et une orchite avec vaginalite, semblable à celle que provoque le virus morveux.

Cette infection pseudo-morveuse, dont M. Kutscher ¹ a fait l'étude bactériologique dans un travail publié peu de temps après celui du même savant sur la pseudo-tuberculose des souris, me semble présenter une analogie plus complète encore avec quelques formes d'infections pseudo-tuberculeuses. M. Kutcher retira du jetage d'un cheval suspect de morve un bacille morphologiquement semblable à celui de la lymphangite ulcéreuse de M. Nocard et bien différent de celui de la morve, en ce qu'il résistait au Gram, qu'il était immobile et liquéfiait la gélatine. Ce microbe était pathogène pour le cobaye, qu'il tuait par inoculation dans le péritoine, avec une formation de nodules multiples dans l'épiploon et avec une vaginalite ; il était également pathogène pour la souris, qui mourait en présentant dans les organes internes *une quantité de nodules semblables à ceux de la pseudo-tuberculose bacillaire*. M. Kutscher, frappé d'une pareille ressemblance, a placé le bacille qu'il avait isolé dans le groupe des bacilles pseudo-tuberculeux.

Je dois confesser que mon impression, après la lecture des innombrables travaux qui traitent aujourd'hui de la pseudo-tuberculose microbienne et notamment des trois dont j'ai parlé en dernier lieu sur la pseudo-morve, me rendit pendant quelque temps perplexe sur la nature d'un épizootie qui avait éclaté dans ces derniers mois parmi les cobayes de l'Institut et que j'ai suivie en détail.

En effet, je me suis demandé, dès le début, s'il s'agissait d'une forme commune de tuberculose zoogléique, ou d'une infection méritant d'être inscrite dans le groupe peut-être moins connu de la pseudo-morve.

Mon incertitude était d'autant plus justifiée que le microbe spécifique de la maladie que j'étudiais, inoculé dans le péritoine des cobayes, provoquait une orchite avec vaginalite, ce qui

1. *Zeitschrift f. Hygiene*. Bd. XXI, 1896, p. 156.

rapprochait cette affection de la pseudo-morve déjà décrite par les auteurs que j'ai nommés.

Les premiers cas de cette maladie apparurent, dans l'élevage de nos cobayes, vers la fin du mois de juin 1904. Les animaux, en apparence sains et vigoureux, mouraient tout à coup si par exemple on les changeait de cages, si on ne leur donnait pas une nourriture abondante, ou encore si on les soumettait à l'inoculation de substances tout à fait inoffensives pour des animaux sains.

A l'autopsie, les altérations anatomiques, visibles à l'œil nu, étaient le plus souvent limitées aux organes de l'abdomen et reproduisaient le tableau de la tuberculose zooglétique tel qu'il est décrit, avec les moindres détails, dans les travaux de M. Pfeiffer et de M. Bonome¹. Elles consistaient en nodules purulents de diverses grosseurs (variant de la dimension d'une semence de chanvre à celle d'une aveline), sur la surface et dans l'épaisseur du foie et de la rate, entre les deux lames séreuses du mésentère, soit vers son point d'attache à la colonne vertébrale, soit vers son bord libre du côté de l'intestin. Dans les organes du thorax, et en particulier dans les poumons, des localisations analogues ne se rencontraient que très rarement; dans les cas où j'examinai le système nerveux central, je ne reconnus aucune altération macroscopique.

Le contenu des nodules, contrairement à ce que M. Bonome constate sur ses cobayes pseudo-tuberculeux, n'était ni dense ni caséux, mais mou, filant et fluide, d'une couleur blanc laiteux.

L'exsudat, à l'examen microscopique à faible grossissement, se montrait constitué d'amas de détritits amorphes, de petites gouttes de graisse libres et d'une quantité plus ou moins abondante de cellules blanches mononucléaires et polynucléaires. L'étude, à l'immersion homogène, d'une très légère couche d'exsudat desséché sur le couvre-objet et coloré avec le bleu fort de Löffler, permettait de reconnaître que les composants morphologiques du pus étaient le plus souvent représentés par des leucocytes polynucléaires à noyaux polymorphes. Le corps de ces leucocytes était à contours indécis et, dans le plus grand nombre d'entre eux, le protoplasma se montrait comme une frange

1. *Archivio per la Scienza Mediche*, vol. XXI, 1897, p. 395.

incertaine, à peine reconnaissable, même après une coloration prolongée pendant quelques heures. Leurs noyaux, au contraire, prenaient encore bien la couleur et apparaissaient tantôt situés dans le centre du corps cellulaire, tantôt portés vers le contour, par suite de la présence, dans le protoplasma, de vacuoles et de petites gouttes de graisse dont le nombre et la grosseur étaient des plus variables.

Parmi ces cellules, il s'en trouvait aussi çà et là quelques-unes plutôt grandes, presque circulaires, avec un noyau ovale ou rond, riche en chromatine, qui occupait la plus grande partie du corps cellulaire, et avec un protoplasma pâle, réduit à un anneau étroit autour du noyau. Ces cellules, peu nombreuses, pouvaient être identifiées avec les grands leucocytes mononucléaires. Quelques-unes d'entre elles avaient plutôt l'aspect de simples blocs ou amas de protoplasma, à teintes très pâles et à faible réfraction, que de cellules véritables. Il s'agissait évidemment d'éléments dans un état de nécrobiose avancé et tout près de la dissolution. L'exsudat était aussi riche en cellules lymphoïdes, mais absolument privé de cellules géantes.

Dans ces mêmes préparations de l'exsudat sortant des nodules, on découvrait, parmi les cellules, de rares bacilles, gros et petits, gonflés, quelquefois si courts qu'ils ressemblaient à autant de cocci; le plus souvent pourvus d'un petit espace vide, dans leur centre, difficilement colorables, même après un traitement de plusieurs heures au bleu alcalin de Löffler.

Ces bacilles étaient ordinairement par groupes de deux ou trois entre les globules du pus, et inclus en plus grand nombre dans l'intérieur des cellules de l'exsudat, qui présentaient les caractères les plus évidents de désagrégation. On n'a pas remarqué dans les bacilles cette tendance à se disposer en chaînette plus ou moins longues ou en filaments, laquelle constitue un caractère propre au strepto-bacille (Dor) de la tuberculose zoogléique. Parmi les globules purulents existaient, en nombre assez faible, ces corps hyalins, ovales ou piriformes que M. Bonome a, le premier, parfaitement décrits dans les nodules des cobayes spontanément pseudo-tuberculeux. Après avoir suivi leur évolution sous le microscope, M. Bonome les considère comme des formes d'involution du microparasite de la tuber-

culose zoogléique, ce qui a été confirmé, il y a peu de temps, par Cipollina ¹.

Les coupes des organes (foie, rate) conservés dans l'alcool, imprégnés de paraffine et colorés selon la méthode de Nicolle ², pouvaient servir non seulement à l'étude bactérioscopique des nodules spontanés et du tissu voisin, mais encore à un examen histologique instructif. Au point de vue de la structure, les nodules, de la grosseur d'un pois, se montraient, à faible grossissement, constitués par un tissu coloré très faiblement en vert bleuâtre avec la thionine phéniquée, et composés de nombreuses cellules à type embryonnaire, soutenues par de rares travées de tissu conjonctif fibreux. Ces fibres, provenant d'une membrane délicate péri-nodulaire, s'insinuaient dans l'épaisseur du nodule et le divisaient en compartiments assez vastes. Parmi les cellules, on voit, en quelques points, une substance homogène, çà et là condensée en petits blocs irréguliers, qui occupaient surtout le centre de chaque nodule, pendant que vers la périphérie s'accumulaient de préférence les éléments cellulaires, le plus souvent groupés en amas épais, semblables à des follicules lymphoïdes.

A fort grossissement, vers la périphérie de chaque nodule, le long de la ligne de contact avec le tissu encore sain, on voyait la délicate lamelle composée de petits faisceaux conjonctifs que nous avons décrite plus haut. Immédiatement en deçà de cette membrane, existaient en abondance, à côté des lymphocytes, des cellules blanches polynucléaires et à noyaux polymorphes, ainsi que d'autres cellules fixes du conjonctif, fusiformes ou étoilées, et un certain nombre d'autres encore, à type épithélioïde. Vers le centre de chaque nodule, on ne voyait que des cellules blanches, de formes et de grandeurs diverses, avec le contour discontinu et irrégulier, un protoplasma pâle et pourvu de vacuoles. Leurs noyaux étaient vésiculeux, ils prenaient mal la couleur et, dans certaines cellules, étaient fragmentés en une quantité plus ou moins grande de granules chromatiques. En quelques points, les cellules voisines se fondaient entre elles et formaient certains amas de protoplasma granuleux, à teintes très pâles et criblés de trous ronds; dans quelques points, les cellules cédaient entièrement la place à cette substance homogène

1. *Annali d'igiene sperimentale*, vol. X, 1900, p. 4.

2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892, p. 783.

que nous avons déjà décrite et qui dérivait de leur fusion nécrotique. De cellules géantes semblables à celles du granulome tuberculeux, il n'y avait aucune trace, soit dans l'épaisseur des nodules, soit dans les tissus voisins. La recherche des microorganismes dans les coupes soumises à un passage, si rapide qu'il fût, dans l'alcool absolu, était encore plus difficile que dans les exsudats examinés en couche mince, sur les couvre-objets. Les bactéries se présentaient en petits groupes de cinq à six, presque toujours déformées, étranglées dans le milieu ou vacuolisées et renflées, tantôt en amas un peu plus forts, surtout vers la périphérie des nodules.

Par la méthode de Nicolle, ils se coloraient de la même teinte que le protoplasma des cellules de l'exsudat, c'est-à-dire qu'ils étaient fort pâles, et à peine reconnaissables sur le fond du tissu.

Le pus des nodules de cobayes ayant succombé à une mort naturelle, l'exsudat péritonéal, ou encore le sang des cobayes infectés avec des cultures, donnaient dans tous les milieux un développement plus ou moins abondant du bacille.

Dans le *bouillon de viande peptonisé et neutre*, le bacille se multiplie rapidement à la température de 34°-35°, produisant un trouble *uniforme et intense* du liquide; après 36-48 heures apparaissait, sur la surface du bouillon, une pellicule irisée, qui devenait ensuite plus opaque jusqu'à former une couche blanche, épaisse, en forme de disque, détachée des parois, semblable à une goutte de cire fondue qu'on a laissée tomber dans l'eau fraîche. En agitant le liquide avec une certaine violence, le disque superficiel se désagrégeait et tombait au fond, sans plus se reformer. Dans les cultures de 6-8 jours, il se dépose un sédiment abondant, à flocons, d'un blanc grisâtre; en vieillissant, le liquide prend une couleur orangée ou reste d'un gris opaque, ce qui était évidemment en rapport avec la composition chimique du milieu nutritif, qu'il n'était pas toujours rigoureusement le même, plutôt qu'à la formation d'un pigment par le microbe. Les cultures, si vieilles qu'elles fussent, ne dégageaient aucune odeur et la partie supérieure de la colonne liquide ne se clarifiait pas, avec le temps.

Dans le *bouillon glyciné*, le microorganisme pousse moins vite, le liquide se trouble un peu, il se forme alors de petits et



Fig. 1. Cobaye mort d'infection spontanée avec de gros nodules pseudotuberculeux dans le foie, la rate et les glandes lymphatiques du mésentère.

rare flocons ou granulations blanches, adhérentes aux parois du tube et déposées sur le fond. Dans le *bouillon saccharosé*, dans le *bouillon lactosé* et dans le *bouillon glucosé*, la bactérie se comportait d'une manière presque analogue. Le bouillon glucosé, au bout de 3 jours d'étuve, devenait fortement acide : au bout de ce temps, le réactif de Fehling ne démontrait, dans le bouillon saccharosé, aucune trace de glucose. La recherche de l'indol restait négative.

Dans la *gélose* en piqure, on obtenait au bout de 25-30 heures d'étuve, le long de la ligne, une légère culture sous forme d'une mince strie grise, semée sur le bord de colonies punctiformes ou hérissée de petites barbes. Ensuite, le bacille végétait abondamment à la surface, en formant un disque blanc, luisant, opaque, un peu saillant, constamment entouré d'un petit halo nacré et diaphane disposé tout autour *comme les pétales d'une marguerite*. Cette conformation de la couche superficielle dans les tubes de gélose était constante : le feston périphérique, dans les vieilles cultures, s'arrêtait à une certaine distance de la paroi du tube.

Une petite quantité de pus, semée sur la gélose inclinée, donnait au bout de 32-36 heures de petites colonies nombreuses, nacrées, brillantes, comme autant de têtes d'épingle, qui, en croissant, se fondaient peu à peu les unes dans les autres et produisaient une couche d'un gris luisant, à contours ondulés. L'eau de condensation devenait fort trouble.

Sur la plaque de gélose, les colonies offraient un aspect tout à fait caractéristique ; après une trentaine d'heures d'étuve on pouvait découvrir, même à œil nu, de petits points translucides qui, au microscope, présentaient une accumulation centrale de granules brunâtres et un contour plus clair, anguleux, fait d'autant d'écailles luisantes disposées comme celles des poissons. Les colonies étaient triangulaires ou polygonales ; la portion périphérique de celles qui se trouvaient situées à la superficie du milieu s'étendait quelquefois sous la forme d'une zone granuleuse et pâle, tandis que le centre conservait l'aspect indiqué ci-dessus. Le contour était toujours net.

Dans la *gélatine* par piqure, le développement était plus abondant à la surface où, au bout de 2 jours, apparaissait une petite tête d'épingle, blanche, opaque, qui se continuait vers le

bas par un filament très mince, formé par une quantité de petites colonies. Ensuite, de chaque côté du filament croissaient, en direction perpendiculaire, des prolongements gros et courts, en même temps le petit bouton superficiel s'élargissait, en prenant l'aspect d'un disque blanc à plusieurs cercles concentriques. Il ne se produisait ni développement de gaz ni liquéfaction du milieu.

Dans *le lait*, le microorganisme poussait moins vite, en modifiant peu à peu l'aspect physique du milieu, sans en altérer la réaction au papier du tournesol. La colonne liquide, après 6-8 jours d'exposition à 35° environ, se partageait en deux parties : l'une superficielle, avec la couleur et la transparence du sérum du lait ; l'autre profonde, blanche et floconneuse, peu abondante, formée de caséine coagulée. En agitant le tube, le sédiment se dissolvait en partie, sans rendre toutefois au milieu son aspect opaque naturel et sa couleur blanche. Le liquide conservait une teinte d'un gris sale ou jaunâtre.

Sur la *pomme de terre*, le développement était sensible dès le second jour, par l'apparition d'une couche humide, grise et diaphane, soit que le matériel ensemencé provint directement d'un animal malade, soit qu'il vint d'une culture. Ensuite, la couche passait par une série de teintes allant du jaune pâle jusqu'au jaune orangé, se comportant comme une culture de bacilles morveux du même âge. Néanmoins, même avec le temps, elle n'acquerrait pas la couleur brun chocolat, propre aux vieilles cultures de morve sur la pomme de terre. La couche avait peu de tendance à croître en épaisseur, elle restait plutôt plane, sèche, d'un luisant métallique, limitée au lieu d'ensemencement sans s'étendre à toute la superficie du milieu.

Sur la *pomme de terre alcaline, acide ou glycinée*, la culture était à peine appréciable.

La bactérie poussait bien aussi sur *le sérum* de veau et de cheval, coagulé en bec de clarinette, et sur la gélose mêlée de sang humain ; sur le sérum, en particulier, elle se développait avec beaucoup de vigueur, sans donner lieu à la formation d'un pigment spécial, même dans les vieilles cultures.

Sous l'hydrogène, en bouillon, l'accroissement était presque nul ; seulement après 5-6 jours, on voyait, le long des parois du tube, de rares et très petits flocons blancs, formés par des

amas de bactéries, comme le prouvait l'examen microscopique.

Dans les cultures sur les divers milieux indiqués ci-dessus, la morphologie du bacille subissait de remarquables modifications. Ce qui frappait dans l'examen de la couche d'une culture fraîche de gélose étalée, sur couvre-objet et colorée avec la fuchsine de Ziehl, c'était le polymorphisme du microbe. Ce dernier assumait des aspects si divers qu'on aurait cru tout d'abord être en présence d'une culture impure. En effet, à côté des formes qu'on ne pouvait distinguer des cocci que par une certaine irrégularité des contours (c'est-à-dire que la ligne de limite, au lieu d'être circulaire comme dans les cocci, était comme brisée), il y avait des bacilles mesurant jusqu'à $3\ \mu$ de longueur et environ 0.7-0.9 de largeur, droits ou légèrement courbés, avec les bouts ronds et deux ou trois vacuoles plasmatiques, rangés en lignes à l'intérieur.

On remarquait des formes intermédiaires entre les deux que nous venons de décrire; elles avaient l'aspect de cocco-bactéries, de bactéries trapues, teintées uniformément ou avec une vacuole centrale, renflée, et les bouts en pointe; formes irrégulières en virgules, en 8 de chiffre ou en chainettes de quelques articles, ordinairement de 3 ou 4, écrasés l'un contre l'autre comme des strepto-cocci ou bien en longs filaments.

Dans les cultures sur gélose, on voyait apparaître, même au bout de 5 ou 6 jours, des formes d'involution difficilement colorables; elles se montraient plus tôt dans la gélose au sang. Dans le bouillon déjà vieux de 15 ou 20 jours, on voyait aussi des bacilles longs et gros, presque comme ceux du charbon, avec des bosses latérales et des gonflements à l'extrémité, en forme de petites excroissances et avec un plasma prenant la couleur d'une manière irrégulière, à cause d'une remarquable hétérogénéité. Au contraire, si l'on examinait la culture sur pomme de terre alors que la colonie avait déjà acquis la teinte caractéristique jaune-rougeâtre, on n'apercevait que de courtes bactéries ovales ou sphériques, ressemblant à de gros cocci constamment isolés, se colorant fortement; les espaces vides, dans l'épaisseur du microorganisme, n'apparaissaient que plus tard, dans les cultures de 12-14 jours.

La bactérie se colore avec les procédés ordinaires et ne

résiste pas au Gram. Elle est douée d'une légère mobilité en goutte suspendue. Les espaces vides déjà notés dans le corps de la bactérie, même dans les jeunes cultures, ne pouvaient être interprétés comme des spores en formation, puisqu'on n'en voyait pas d'isolées dans les vieilles cultures, avec la méthode de Moëller.

Le microorganisme conservait longtemps, dans les milieux artificiels, sa végétabilité et sa virulence. Des cultures sur gélose, de 5 mois et demi, maintenues dans un état convenable d'humidité, non seulement donnaient lieu à de nouvelles cultures, mais étaient encore fort pathogènes pour le cobaye. Au contraire, le germe ne résistait guère au dessèchement ni aux basses températures. Beaucoup de formes, après 12 jours de conservation sur des fils de soie maintenus à la température de la chambre (10°-12°) mouraient, et au bout de 16 jours, d'autres fils, préparés de la même manière, laissaient stérile le milieu où ils étaient déposés.

L'inoculation sous-cutanée de 1 c. c. d'une culture fraîche en bouillon versée sur une boîte de Pétri, et exposée pendant 14 heures à une température variable de —2° à —8°, tuait le cobaye seulement au bout de 12 jours; une exposition prolongée pendant 48 heures, dans les mêmes conditions, privait la culture de toute activité.

La bactérie est virulente non seulement pour le *cobaye*, mais encore pour le *pigeon* et la *souris blanche*.

L'animal le plus sensible était le cobaye, puis le pigeon et enfin la souris. Chez le cobaye, l'inoculation sous-cutanée, soit d'exsudat provenant d'un autre cobaye malade, soit d'une petite quantité de culture, était suivie de l'apparition d'un gros nodule local et d'une éruption nodulaire dans tous les organes. L'animal mourait ordinairement entre le 6^e et le 8^e jour. Quand l'inoculation était directement pratiquée dans le péritoine, l'infection se manifestait plus rapidement : le cobaye donnait des signes de maladie dès le second jour, et entre le 3^e et le 4^e on voyait apparaître une orchite avec vaginalite aiguës plus ou moins intenses.

Généralement, la maladie commençait par un testicule et se communiquait à l'autre.

La peau du *scrotum*, du côté correspondant au premier

testicule lésé, devenait tendue, luisante et à peine rouge; le testicule grossissait jusqu'à atteindre le volume d'une petite noix et s'immobilisait dans la bourse de manière à ne plus pouvoir rentrer dans l'abdomen. Je n'ai jamais vu la peau du scrotum s'ulcérer, comme il arrive souvent dans l'infection morveuse. A la mort de l'animal, entre le 5^e et le 6^e jour, à l'ouverture du ventre, on constatait une péritonite diffuse fibrino-purulente, avec une énorme tuméfaction de la rate (dans un cas, elle mesurait 0^m,045 \times 0^m,017 et pesait 2^{gr},53) et une vaginalite bilatérale; les deux lames de la vaginale adhéraient ordinairement entre elles par l'interposition d'une couche plus ou moins épaisse d'exsudat fibrineux.

Le didyme et l'épididyme, en général, étaient enflammés et plus ou moins congestionnés, sans néanmoins présenter jamais d'infiltration nodulaire.

Une grande quantité de culture introduite dans le péritoine tuait rapidement le cobaye, sans donner lieu à l'orchite. Cette dernière apparaissait quand l'infection était produite avec une très petite quantité de culture (une anse de culture sur gélose ou 0,5 c. c. de bouillon) ou d'exsudat.

L'infection pouvait aussi être transmise au cobaye par le moyen des aliments auxquels avait été mêlée de la culture sur gélose; l'animal succombait alors dans un temps plus ou moins long, entre 40-60 jours, en présentant à l'autopsie la fonte purulente de certaines glandes du mésentère et une infiltration nodulaire, quelquefois ulcéreuse, des follicules de l'intestin. Ce résultat, du reste, n'était pas toujours constant, et quelques cobayes ainsi traités ne présentaient aucune altération anatomique.

Les *pigeons* mouraient rapidement par injection intra-veineuse de petite quantité de culture; ils périssaient en 10 à 15 jours après une inoculation sous-cutanée, avec des lésions semblables à celles des cobayes infectés par la même voie: c'est-à-dire une myriade de nodules gris tuberculiformes dans tous les organes internes, et un gros amas caséeux très compact, jaunâtre, dans le lieu même de l'inoculation.

Les résultats de l'infection expérimentale de la *souris blanche* étaient plus incertains; l'animal réagissait quelquefois contre l'inoculation sous-cutanée par un simple petit abcès

local qui s'ulcérait lentement et se cicatrisait, de manière que l'animal survivait dans un état de santé parfaite. Cela se produisait surtout dans les cas où l'on employait, pour l'infection, une petite quantité de sang prise sur cobaye infecté, peut-être parce que les bactéries étaient peu nombreuses. D'autres fois, au contraire, à l'abcès local succédait une lente généralisation du virus, avec formation de petits nodules spécifiques dans le foie, les reins et les glandes lymphatiques de l'abdomen; l'animal mourait après 20-25 jours.

Le *lapin*, la *poule*, le *chat* et le *chien* résistaient, au contraire, à une dose même très forte de virus. Le lapin et le chat montraient tout au plus, à la place de l'inoculation, une tuméfaction œdémateuse fort circonscrite, qui se transformait rarement en un petit abcès. Celui-ci se résorbait ou dégénérait en un ulcère atonique, à bords calleux, qui peu à peu finissait par se cicatriser sans laisser aucune trace. Les deux animaux pouvaient aussi supporter l'inoculation intrapéritonéale d'une quantité considérable de culture fraîche sans donner aucun signe de maladie : un lapin, en particulier, 60 jours après l'inoculation, dans l'abdomen, de 3 c. c. de culture en bouillon, présentait seulement dans le foie 3 ou 4 nodules sclérosés dus à des coccidies, sans aucune trace d'infection. L'ensemencement, sur la gélose, du suc du foie et de la rate de ce lapin ne donna aucune culture.

L'examen bactérioscopique des sucs organiques des cobayes morts d'infection expérimentale était beaucoup plus démonstratif que celui qu'on avait obtenu de l'exsudat des nodules dans l'infection spontanée. L'agent spécifique se présentait sous l'aspect d'une bactérie courte, à bouts ronds, isolée par paires ou par groupes de 5 à 6 articles qui se coloraient uniformément par le bleu de métylène alcalin, ou prenaient la couleur aux extrémités avec un espace clair au milieu.

Dans ces mêmes préparations, le microorganisme apparaissait généralement doué d'un certain pléomorphisme; à côté de formes petites et grosses ressemblant à des cocci, on remarquait des bacilles très nets de 1,4-1,6 μ à 0,6-0,8 μ : toutefois ces dernières formes, par la présence très fréquente d'une grosse vacuole centrale, pouvaient, au premier abord, être prises pour des diplococci. Ordinairement la bactérie était libre entre les

cellules de l'exsudat et seulement par exception incluse dans le corps des leucocytes.

Les mêmes tubercules, qui apparaissaient surtout dans la forme lente provoquée par l'inoculation sous-cutanée d'une petite quantité de culture, offraient à l'examen *in toto* un matériel d'observation précieux, parce qu'on pouvait non seulement suivre, par une simple inspection des coupes du tissu infecté, la formation du nodule dans ses diverses phases, mais encore reconnaître distinctement, entre les cellules d'infiltration, le microparasite spécifique et étudier ses rapports de situation.

Les coupes du foie ou de la rate, colorées selon la méthode de Nicolle pour les bactéries qui ne tiennent pas le Gram, conviennent admirablement pour cette étude. Dans le foie, surtout, on pouvait encore mieux que dans la rate (où la présence de corpuscules malpighiens empêchait de reconnaître facilement les tubercules de première formation) relever les altérations anatomiques qui se produisaient aussitôt que le parasite s'était logé dans le tissu. Entre les ilots des cellules glandulaires commençait à apparaître un petit nid de cellules migratrices, 4 ou 5 au maximum, à un ou à plusieurs noyaux, plus ou moins rapprochées de la paroi d'un vaisseau sanguin. Au milieu de ces cellules émigrées, très rapprochées l'une de l'autre et qui semblaient placées au sein d'une petite quantité de substance homogène, on ne parvenait ordinairement à découvrir aucun microorganisme.

Peu à peu ces cellules blanches devenaient plus nombreuses, jusqu'à former un amas discrètement volumineux, limité à la périphérie par une couronne de cellules glandulaires renflées, irrégulières, dépourvues de noyau, dont le contour était fortement teinté par la thionine phéniquée, car elles subissaient la plus typique métamorphose hyaline.

Cependant, même les cellules d'infiltration, situées dans le centre du nodule, perdaient leur individualité et finissaient par être frappées du même procès de désagrégation qui a déjà été décrit dans les tubercules spontanés. Juste à cette phase du développement correspondaient les préparations les plus démonstratives au point de vue bactériologique.

Au centre des nodules, là où la nécrobiose cellulaire était plus prononcée, on voyait ordinairement un amas de petits bacilles si étroitement pressés les uns contre les autres que la

forme bacillaire ne se distinguait nettement qu'à la périphérie; le centre de la zooglée semblait un petit bloc granuleux, coloré en violet foncé. Les bacilles périphériques à coloration uniforme, ordinairement courts et gros, ovoïdes, étaient quelquefois si petits qu'ils semblaient des cocci. Je n'ai jamais pu reconnaître, parmi les cellules du tissu, hors des limites des nodules spécifiques, de microorganismes isolés; je ne prétends pourtant pas qu'il ne puisse en exister, étant donnée la difficulté de les reconnaître à cause de leur très pâle coloration.

*
* *

J'ai déjà parlé de la considérable contribution de M. Preisz dans l'étude de ces affections, la classification qu'il en a faite sous trois types fondamentaux de pseudo-tuberculose est insuffisante.

En effet, lui-même reconnaît que parmi les maladies pseudo-tuberculeuses déjà connues avant 1894, celles qui, par exemple, ont été décrites par M. Courmont¹ et MM. du Cazal et Vailland² restent en dehors de sa classification. M. Preisz a eu le grand mérite d'avoir identifié certains types entre lesquels on ne voyait que quelques affinités, et d'avoir ainsi simplifié beaucoup les problèmes de la diagnose différentielle entre les diverses formes de pseudo-tuberculose microbienne. Des trois principales variétés qu'il distingue, la plus intéressante à cause de sa diffusion et du nombre considérable de travaux qu'elle a provoqués, c'est la *Pseudotuberculosis rodentium*, à laquelle se rapportent, outre les observations fondamentales de MM. Malassez et Vignal³, les épizooties ultérieurement décrites par M. Nocard⁴, M. Pfeiffer, M. Zagari⁵ et M. Parietti⁶, ainsi que celles de MM. Charrin et Roger⁷, de M. Dor⁸, de MM. Grancher et Ledoux-Lebard⁹, et les autres plus récentes de M. Bonome et de M. Cipollina.

1. COURMONT, *Comptes rendus de la Soc. de biologie*, 1889, p. 215.

2. DU CAZAL ET VAILLAND, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1891, n° 6, p. 353.

3. MALASSEZ ET VIGNAL, *Arch. de physiol. norm. et pathol.*, 1883, p. 369, et 1884, p. 81.

4. NOCARD, *Bulletin de la Soc. centr. de méd. vétér.*, 1885, p. 207; et NOCARD ET MASSELIN, *C. r. de la Soc. de biol.*, 1889, p. 1577.

5. ZAGARI, *Riforma medica*, 1889, n° 258, p. 143.

6. PARIETTI, *Centralblatt f. Bakteriologie*, Bd. VIII, 1890, n° 19, p. 577.

7. CHARRIN ET ROGER, *Compt. rend. de la Soc. de biologie*, 1888, p. 272.

8. DOR, *Ibidem*, p. 449.

9. GRANCHER ET LEDOUX-LEBARD, *Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol.*, 1889, p. 203, et 1890, p. 589.



Fig. I. — Cobaye mort 6 jours après l'inoculation, sous la peau du dos, de 05 c. c. d'une culture en bouillon; gros nodule hémisphérique au lieu d'inoculation.



Fig. II. — Cobaye infecté dans le péritoine avec une anse de gélose et mort le 5^e jour de maladie : orchito-vaginalite bilatérale plus marquée à droite.

Le second type est la *Pseudotuberculosis murium*, de M. Kutscher, dont le domaine s'est fort agrandi depuis 1894.

Il comprendrait, en effet, non seulement l'infection étudiée par M. Kutscher, laquelle est la première par ordre chronologique, mais encore celles décrites par M. Galli-Valerio ¹, M. Reed ² et M. Bongert ³, qui ne différeraient de celle de M. Kutscher que par quelques particularités.

A la troisième variété, *Pseudotuberculosis ovis* de MM. Preisz et Guinard, se rattache peut-être l'infection observée par M. Turski sur les brebis ⁴. L'auteur donne trop peu de détails pour qu'on puisse l'identifier sûrement avec la maladie de Preisz et Guinard. En tout cas, ces deux dernières variétés de pseudotubercules infectieuses des souris et des brebis, considérées chacune séparément, sont étiologiquement trop différentes de la forme que j'ai sommairement décrite, pour que je me sente le devoir d'établir entre elles et l'infection présente un examen comparatif ⁵. C'est pourquoi il reste à savoir si l'infection que j'ai étudiée peut se confondre avec la *Pseudotuberculosis rodentium* classique, ou avec les deux autres formes de M. Courmont et de MM. du Cazal et Vaillard, qui ne rentrent pas dans la classification de M. Preisz.

Les différences entre l'infection que j'ai décrite et la *Pseudo-*

1. GALLI-VALERIO, *Moderno Zootatro*, 1896. Travail résumé par M. Cipollina.

2. REED, *Contribution to the Science of medicine Batimore*, 1900 (voir le travail de M. Wrede, p. 551).

3. BONGERT, *Zeitschrift f. Hygiene*, Bd. XXXVII, 1901, p. 449.

4. TURSKI, *Zeitschrift f. Fleisch u. Milchhygiene*, Bd VII, 1897, H. 9, résumé dans le *Centralbl. f. Bakt.*, Bd XXII, 1897, p. 615.

5. Pour se convaincre de cette différence, il suffit de prendre une connaissance même sommaire des travaux relatifs à cette étude. Je me contente de signaler ici quelques-unes seulement de ces différences.

La *Pseudotuberculosis murium* de M. Kutscher est causée par un petit bacille morphologiquement semblable à celui de la diphtérie : il oppose une certaine résistance à la décoloration avec le Gram et il est exclusivement pathogène pour le rat, en particulier pour le rat gris. Le microorganisme isolé par M. Bongert différerait de celui de M. Kutscher parce qu'il infecte plus facilement le rat par la voie digestive, cette particularité ne pouvant, selon moi, justifier une séparation des deux formes. La coco-bactérie étudiée par M. Galli-Valerio, sur la souris blanche, résiste très bien au Gram et liquéfie la gélatine; celle de M. Reed prend, elle aussi, le Gram.

Le microparasite, enfin, que M. Preisz a retiré des nodules caséux du rein de mouton résiste au Gram, il ne pousse ni sur la gélatine solide ni sur la pomme de terre, et donne sur le sérum de bœuf coagulé une colonie d'un jaune doré, semblable à celle du bacille de la lymphangite ulcéreuse de M. Nocard. Le pigeon supporte sans trouble l'injection de ce bacille, tandis que le lapin y succombe.

tuberculosis rodentium des auteurs ci-dessus nommés sont de deux ordres : cultureux et biologiques. Les particularités morphologiques ne permettent point d'établir une distinction entre le microorganisme de la pseudo-tuberculose des rongeurs et celui que j'ai fait connaître, car tous deux sont très polymorphes et la même description peut leur convenir.

Parmi les propriétés culturales, je rappelle que la bactérie que j'ai isolée produit, contrairement à l'autre, une lente coagulation du lait ; qu'avec le temps, elle communique au bouillon glucosé, neutre ou légèrement alcalin, une réaction acide prononcée ; qu'elle ne dégage de gaz d'aucun *milieu de culture*, même si elle végète pendant longtemps ; qu'elle ne donne pas lieu à la production de cristaux en aiguilles (Pfeiffer) ni sur gélatine ni dans le bouillon ; et enfin qu'elle forme sur les sérums du bœuf et du cheval coagulés une couche *blanche laiteuse* qui ne devient pas jaunâtre, même dans les vieilles cultures.

Les différences biologiques sont pourtant plus intéressantes, elles rapprochent le microbe, isolé par moi, des bactéries du groupe de la pseudo-morve, plus que du streptobacille de la pseudo-tuberculose.

Elles se résument : 1^o dans la très faible virulence de la susdite bactérie pour le lapin : au lieu de donner, chez cet animal, des nodules disséminés dans tous les organes, ou encore une septicémie avec mort rapide, comme cela arrive à la suite de l'inoculation du streptobacille pseudo-tuberculeux, elle s'arrête à la porte d'entrée, souvent sans laisser aucune trace de sa pénétration ; 2^o dans le fait que le pigeon et la souris blanche, inoculés sous la peau avec une petite quantité de culture, meurent de granulie miliaire, contrairement à ce qu'on obtient par l'introduction sous-cutanée du streptobacille de Dor, dont l'action reste, dans ces deux animaux, limitée au lieu de l'inoculation ; 3^o dans l'apparition de l'orchite avec vaginalite chez le cobaye, après l'injection intrapéritonéale d'une petite quantité de culture, orchito-vaginalite qui est tantôt unilatérale, tantôt double, et qui, ordinairement, s'associe à une légère tuméfaction du testicule et à une immobilisation de celui-ci dans le scrotum,

Par quelques-unes des propriétés dont je viens de parler et aussi par quelques caractères cultureux de non moins d'import-

tance, la bactérie s'éloigne des bacilles de la pseudo-tuberculose isolés par M. Courmont et par MM. du Cazal et Vaillard.

En effet, le microbe de M. Courmont pousse bien dans le vide et donne sur la pomme de terre une couche couleur café.

Celui de MM. du Cazal et Vaillard liquéfie la gélatine et fournit sur la pomme de terre une culture jaune brunâtre s'étendant à toute la surface.

Notre bacille se rapproche de celui de la morve et du groupe de microparasites classés dans la catégorie des pseudo-morveux.

Qu'il s'agisse d'une forme anormale de morve des petits rongeurs ! Je ne le crois pas¹ ; la résistance du chat à l'infection exclut cette supposition, de même que certains caractères morphologiques et certaines propriétés des cultures qui éloignent les deux microbes l'un de l'autre.

Le pléomorphisme, la longue conservation de la vitalité et de la virulence dans les milieux artificiels, le trouble intense du bouillon avec formation du disque en écailles de cire à la surface du liquide, le manque de viscosité de la culture sur gélose et l'aspect spécial de la colonie sur la plaque distinguent la susdite bactérie du bacille morveux. La manière dont la bactérie se présente dans le tissu est complètement différente de celle du bacille de la morve.

Il me semble inutile d'insister davantage sur cette comparaison, et je crois plus opportun d'examiner par quels caractères la bactérie isolée par moi se détache du groupe des bactéries *pseudo-morveuses*. Parmi celles-ci, seul le bacille de M. Babès est morphologiquement fort semblable à celui de la morve ; il donne sur la pomme de terre des « colonies plates bien limitées, comme des gouttes de miel, ressemblant aux colonies du bacille morveux, desquelles elles diffèrent par la couleur plutôt jaune

1. Je rappelle ici, à titre de simple curiosité, que les produits toxiques de la bactérie, extraits de son corps par les procédés qu'on suit ordinairement pour la préparation de la malléine, ne déterminaient par injection sous-cutanée chez un cheval (2 c. c. 5, d'une solution à 1/3) aucune réaction ni locale ni générale, pendant qu'ils provoquaient de la même manière une forte tuméfaction chaude et douloureuse au niveau de l'injection et une élévation thermique de 1°, chez un cheval morveux, depuis plusieurs jours sans fièvre. C'est-à-dire que ces produits déterminaient une réaction fort semblable à celle de la malléine, toutefois moins intense et moins durable : en effet, la tuméfaction locale qui, au bout de 12 heures après l'inoculation, était aussi grosse que la moitié d'une orange, disparaissait déjà à la fin du second jour et la fièvre cessait au bout de 48 heures.

que brune » (p. 630, *l. c.*). Toutefois, le bacille de M. Babès est presque inoffensif pour le cobaye chez lequel il détermine, par l'inoculation sous-cutanée, un petit ulcère local n'ayant aucune importance et guérissant vite, tandis qu'il tue le lapin en peu de temps, soit avec de petits abcès dans les organes, soit par une rapide septicémie, si le virus a été exalté par passages *in vivo*.

Les autres bacilles pseudo-morveux, de M. Nocard et de M. Kutscher, donnent sur la pomme de terre une colonie « sèche, pulvérulente, d'un blanc sale » (Nocard), ou une couche sèche et blanche » (Kutscher) qui ne change pas de teinte.

En outre, l'agent spécifique de la *lymphangite ulcéreuse* de M. Nocard pousse dans le bouillon sous la forme d'une multitude de petits grumeaux blanchâtres, qui se précipitent au fond sans troubler la limpidité du liquide; ce même microbe ne provoque pas la coagulation du lait, il ne végète pas sur la gélatine solide et il donne, sur le sérum du bœuf, une colonie jaune plus ou moins intense, semblable à celle du staphylocoque doré.

De plus, il « prend admirablement le Gram ». D'autre part, le bacille pseudo-morveux de M. Kutscher se colore, lui aussi, avec la méthode de Gram et donne, dans la gélatine par piqure, une culture qui, par la liquéfaction graduelle et progressive du milieu, avec production simultanée d'une bulle de gaz à la superficie, ressemble beaucoup à la culture si caractéristique du vibrion cholérique. Comme on le voit, ce parallélisme biologique dont j'ai parlé plus haut, entre le bacille isolé par moi et les bacilles pseudo-morveux, se résume en l'action analogue que ces bactéries exercent sur quelques petits rongeurs. Il ne persiste plus dès que l'on compare entre eux les caractères cultureux de chacun de ces microbes et la façon dont ils se colorent.

Selon moi, une ligne de démarcation aussi nette existe entre le microorganisme que j'ai décrit et le bacille de la pseudo-tuberculose du chat que M. Galavielle¹ a isolé, quoique cet auteur n'ait pas fourni de détails suffisants sur la situation de son microbe dans les tissus, non plus que sur les caractères des cultures et les propriétés microchimiques du parasite.

1. *Compt. rend. de la Soc. de biologie*, 1898, p. 492 et 1005.

En nous en rapportant aux rares notions que nous trouvons dans la communication de M. Galavielle, les deux microbes provoqueraient, chez le cobaye et la souris blanche, une formation de nodulès tuberculiformes multiples dans les viscères et chez le premier, en particulier, l'orchite avec vaginalite purulente aiguë, après inoculation dans le péritoine.

Je dois rappeler que M. Galavielle insiste sur les différences qui existent entre l'orchito-vaginalite *provoquée par l'inoculation endopéritonéale de cultures de morve*, et celle déterminée de la même manière par le virus qu'il étudie. Dans l'orchito-vaginalite morveuse, il observe avec justesse que la vaginalite prévaut sur l'orchite. En effet, le testicule ne participerait à l'inflammation que rarement et d'une manière modérée. Dans l'infection dont il s'occupe, la vaginalite est légère, tandis que la didymo-épididymite est intense, avec tuméfaction et ramolissement du testicule, dont les canaux séminifères sont remplis de pus. La bactérie que j'ai isolée agissait autrement que le bacille de M. Galavielle : en effet, j'ai constamment observé sur mes cobayes que la vaginalite prévalait de beaucoup sur l'orchite. Toutefois, laissant de côté ces différences qui sont surtout quantitatives, je rappellerai que le bacille de M. Galavielle était fortement pathogène pour le lapin et le chat, chez lesquels il provoquait une maladie d'une durée plus ou moins longue et caractérisée par l'apparition de pseudo-tubercules dans tous les organes. Je crois que ces différentes aptitudes pathogéniques suffisent pour empêcher d'identifier ces deux microorganismes. Trois lapins et une dizaine de chats ont été inoculés, sous la peau ou dans le péritoine, avec une quantité vraiment énorme d'exsudat ou de culture et, chez eux, je ne vis absolument rien de tout ce que M. Galavielle a remarqué.

Beaucoup de ces animaux sont restés en observation pendant plusieurs mois, sans donner aucun signe de maladie. Quelques-uns d'entre eux ont été sacrifiés en pleine santé, l'examen bactériologique des organes n'a montré aucune lésion.

Le laconisme de la relation bactériologique que nous donnent MM. Hallopeau et Bureau¹ ne me permet pas d'établir une comparaison entre l'infection que j'ai étudiée et celle qui a été

1. *Annales de dermatologie et de syphiligraphie*, t. VII, 1896, p. 547.

relatée par ces auteurs, qui ont également réussi à provoquer l'orchito-vaginalite chez le cobaye par l'inoculation endopéritonéale des matières recueillies à la superficie d'ulcères cutanés dans un cas de mycosis fungoïde.

MM. Hallopeau et Bureau excluent le diagnostic de morve parce qu'ils ne virent, *parmi de nombreuses variétés microbiennes*, existant dans l'exsudat de la vaginale, aucun micro-organisme ressemblant morphologiquement au bacille morveux. Ils ne disent pas quelle espèce microbienne a causé l'orchite.

Chez le cobaye, le sac vaginal est la continuation du péritoine; avec une pareille conformation anatomique, il semblerait qu'une vaginalite plus ou moins grave doive toujours accompagner la péritonite infectieuse. Mais la réalité ne confirme pas les prévisions. Cette association, en effet, a été, jusqu'à présent, constatée dans un nombre très limité de cas, et précisément dans ceux où la péritonite est causée par l'un ou l'autre des microorganismes que je viens de nommer. Mais cela suffit pour qu'on ne considère plus la vaginalite aiguë, succédant à la péritonite septique, comme spécifique d'une infection déterminée.

Après cette succincte exposition critique, il me semble que ce n'est pas le cas de parler d'une identification de la maladie infectieuse que j'ai étudiée, avec la pseudo-tuberculose bacillaire classique des rongeurs, ou avec les divers types de pseudo-morve. Cette infection se place, à mon avis, entre ces deux maladies, et peut parfaitement servir à leur rapprochement, puisqu'elle possède quelques-unes des propriétés fondamentales de chacune d'elles.

Les différences d'ordre biologique, existant entre les bacilles pseudo-morveux, décrites jusqu'ici ne nous permettent pas de les classer en groupe homogène, et le nom de « pseudo-morves » réunit des formes cliniquement semblables, mais étiologiquement bien disparates, comme on le voit dans la *Revue synthétique* de M. Kitt.

C'est pourquoi, si l'on veut faire entrer dans un groupe l'agent spécifique de l'infection que j'ai traitée, il faut, malgré les caractères différentiels déjà cités, le rapprocher de préférence de la *pseudotuberculosis rodentium*, à côté de laquelle il peut figurer comme produisant une forme de pseudo-tuberculose atypique.

Pour le distinguer des autres bacilles pseudo-tuberculeux et des pseudo-morveux de M. Babès, de M. Nocard et de M. Kutschner, je proposerai de lui donner le nom de *bacterium pseudotuberculare orchitophlogogenes*.

Ses caractères biologiques montrent une fois de plus combien il faut apporter d'attention pour établir l'origine morveuse, indiscutable, de produits pathologiques.

L'existence de colonies jaunes cérumineuses sur la pomme de terre, et la production de l'orchito-vaginalite chez le cobaye ne suffisent pas pour se prononcer; il faut y joindre une étude minutieuse des autres caractères bactériologiques.

Appendice.

Quelque temps avant que j'entreprisse cette recherche sur l'infection pseudo-tuberculeuse des cobayes, un gros chat indigène avait été apporté à l'Institut. A l'autopsie on trouva le foie, la rate, les glandes du mésentère remplis de nodules tuberculiformes gris, compacts, de différentes grandeurs, depuis une tête d'épingle jusqu'à un pois. Les plus gros de ces nodules commençaient à peine à se caséifier dans le centre, tandis que les plus petits avaient presque l'aspect de jeunes foyers de tumeurs; pourtant, un examen histologique du tissu frais suffit à faire disparaître toute incertitude en prouvant qu'il s'agissait d'un procès d'inflammation néoplastique.

Engagé dans d'autres travaux, je n'eus pas alors le temps d'étudier cette maladie comme elle l'aurait peut-être mérité; c'est pourquoi je ne puis communiquer ici que le seul résultat de l'examen bactérioscopique des petits morceaux des divers organes de cet animal, conservés dans l'alcool; et je crois devoir le faire en prenant justement motif de la maladie pseudotuberculeuse décrite plus haut sur les cobayes, vu que cette observation isolée s'en éloigne notablement.

Les caractères histologiques des nodules situés, par exemple, dans le foie de ce chat, étaient un peu différents de ceux que j'avais déjà observés chez les cobayes. Dans les coupes minces obtenues des morceaux inclus en paraffine et colorés avec le bleu Löffler, les nodules, quoique dépourvus d'une enveloppe capsulaire, se séparaient nettement du tissu du foie; les îlots hépatiques se trouvaient en contact direct avec la zone périphérique de chaque nodule et apparaissaient séparés, çà et là, par l'infiltration de minces et courts cordons de cellules migratrices provenant de la couche corticale du pseudo-tubercule. Les cellules glandulaires, échelonnées tout autour, étaient défor-

mées, en partie par l'effet de la pression que le nodule opérait sur elles, en partie par le dépôt exagéré des pigments biliaires dans leur protoplasme et par la présence d'îlots assez étendus, de raréfaction en forme de vacuoles, indices d'une dégénération graisseuse avancée.

Laissant un instant de côté les très jeunes nodules, on pouvait clairement distinguer au microscope, dans les autres nodules plus vieux et plus volumineux, trois zones : l'une extérieure, une médiane et une intérieure. La zone extérieure était formée par un halo plus ou moins étendu de cellules d'infiltration, pour la plupart lymphocytes et leucocytes de moyenne grandeur, à noyau polymorphe, parmi lesquels on voyait des restes très clairsemés de cellules hépatiques, ainsi que quelques faisceaux de tissu conjonctif fibreux très minces et pourvus de noyaux fusiformes. Ces faisceaux étaient peut-être des résidus du vieux stroma du foie détruit. Le plus souvent, les espaces intercellulaires, dans la partie interne de cette zone, étaient occupés par une substance homogène ou à fines granulations colorées d'une teinte pâle par le bleu de méthylène, çà et là aussi condensés en petits blocs : ces derniers avaient quelquefois une nuance rosée.

La zone du milieu était exclusivement constituée par de gros amas de microorganismes, parsemés dans le tissu d'une manière tout à fait caractéristique : ils formaient, en effet, une espèce de couronne ou d'anneau bleu intense, dont l'épaisseur était presque uniforme et le diamètre variable, selon le volume du nodule pseudo-tuberculeux, de sorte que quelquefois l'anneau tout entier restait compris dans le champ microscopique d'un objectif n° 3 Koriska, tandis que d'autres fois une partie seulement de cet anneau était visible.

Quoi qu'il en soit, les rapports des amas bactériens avec le tissu évoquaient à peu près les images qu'offrent ordinairement les crosses de l'*Actinomyces bovis*, ou les filaments du *Streptotrix Madurae*, dans les nodules spécifiques correspondants.

On obtient encore des préparations dans lesquelles le relief des microorganismes sur le tissu est bien apparent, au moyen de la méthode employée par M. Kanthack, dans l'étude histo-bactérioscopique de l'actinomycosis et du micetoma : toutefois, les préparations au bleu de méthylène alcalin, mordancées avec le tanin, sont plus démonstratives et plus élégantes.

Enfin, la zone centrale de chaque nodule était formée par des produits de dégénération et de désagrégation cellulaires, parmi lesquels on voyait, disséminées, quelques cellules rondes, mononucléées, ainsi que de petits amas très rares et granuleux, qu'à fort grossissement on pouvait reconnaître pour autant de groupes de bactéries. Les produits cellulaires de dégénération prévalaient toutefois sur le reste et se présentaient dans les préparations colorées avec le bleu de méthylène et examinés à fort grossissement, sous la forme de petits blocs irréguliers, d'une substance homogène, teinte en vert bleuâtre. Ces petits blocs, dans certains points de la zone centrale du nodule, semblaient reproduire le modèle des vieilles cellules d'infiltration en proie à la nécrobiose hyaline, pendant que dans d'autres points elles se fondaient entre elles pour donner des amas un peu plus gros, homogènes et faiblement réfringents. Cet îlot central du nodule ne présentait guère de trace de fibrine

dans les coupes traitées avec la méthode de Weigert. Au contraire, on remarquait çà et là de petites pertes de substances, en forme de vacuoles ou de fentes arborisées, peut-être imputables à la rétraction produite par les réactifs ou encore à la dissolution de gouttes grasses pendant la déshydratation des tissus dans l'alcool.

Donc, pour résumer, chaque pseudo-tubercule était formé par trois couches concentriques : une périphérique, formée de préférence des lymphocytes ; une intermédiaire, constituée par des amas de bactéries, et une centrale, composée en grande partie de produits de désagrégation cellulaire.

Comme M. Preisz l'a démontré, le nodule spécifique de la pseudo-tuberculose spontanée des rongeurs a une constitution différente de celle que je viens de décrire ; il est spécialement formé d'une accumulation de lymphocytes et de leucocytes polynucléaires, rassemblés dans le centre du nodule et souvent entourés d'une zone pâle, résultant de la dégénération des cellules propres au tissu sur lequel le nodule s'est implanté.

Les zooglées occupent le centre du pseudo-tubercule parmi les cellules d'infiltration, et puisque les microorganismes sont difficilement colorables dans les coupes, chaque zooglée se présente le plus souvent comme un petit flot granuleux à teinte très pâle. Seuls, les produits pseudo-tuberculeux très jeunes existant dans le foie de notre chat avaient histologiquement des ressemblances avec les pseudo-tubercules des cobayes tels qu'ils sont décrits par M. Preisz, c'est-à-dire qu'ils étaient constitués par un amas central de bactéries entouré d'une couche de cellules migratrices. Il arrivait souvent de découvrir quelques petites zooglées isolées, soit en contact direct avec les cellules glandulaires du foie, soit dans le corps même de ces cellules. Les cellules géantes de Langhans, qui existent dans les vrais tubercules, manquaient également dans ce cas, comme dans les nodules de la *pseudotuberculosis rodentium*. Vers le contour des zooglées, dans les coupes colorées pendant 10-15 minutes avec le bleu de méthylène alcalin de Löffler, le microorganisme avait l'aspect d'un bacille court et fin, de la même grosseur que le bacille d'Eberth, avec les bouts ronds et le corps fortement coloré en bleu, d'une manière uniforme, c'est-à-dire sans aucune trace de vacuoles ou d'espaces vides. A la périphérie des zooglées, on remarquait que ce bacille a très souvent une tendance à se disposer en courtes chaînettes de 3-5 articles ; les plus petits des amas microbiens dans lesquels ces chaînettes, vues au microscope, semblaient conserver une certaine individualité offraient l'aspect de pelotes plus ou moins compactes de filaments très fins. La bactérie ne résistait pas à l'action des acides minéraux, comme le vrai bacille de la tuberculose. Après le traitement avec le violet de gentiane d'Ehrlich et le liquide de Lugol, le bacille résistait admirablement à la décoloration par l'alcool absolu ; on pouvait pousser le lavage des coupes, au moyen de l'alcool, jusqu'à enlever aux noyaux des cellules toute trace de substance colorante, sans que les bacilles perdissent de leur vive couleur violette.

J'appelle l'attention sur ce fait, car il constitue un critérium différentiel décisif entre cette forme de pseudo-tuberculose bacillaire du chat et la variété des tuberculoses zoogléliques des cobayes dont j'ai parlé plus haut.

Cette même propriété du microorganisme, de résister longuement à la décoloration, a aussi une autre signification : elle démontre comment les cas très rares de pseudo-tuberculose microbienne du chat, connus jusqu'à nos jours, ne peuvent étiologiquement remonter à un agent unique, et autorise à étendre à l'espèce *féline* ce que nous avons dit sur la multiplicité des causes des infections pseudo-tuberculeuses du lapin, du cobaye et de la souris.

En effet, il est facile de constater que parmi les deux autres observations de pseudo-tuberculose bacillaire du chat que je connais, celle de M. Galavielle et celle de M. t'Hoens, cette dernière s'éloigne de la mienne.

J'ai eu l'occasion de rappeler précédemment comment M. Galavielle a, dès 1898, communiqué sous une forme très succincte, à la Société de biologie de Paris, le résultat de l'examen bactériologique fait sur un cas qui a peut-être quelques points de contact avec le mien. Mais les éléments de comparaison font défaut, à cause du peu de détails contenus dans le travail de M. Galavielle. Le chat qui a été le point de départ des recherches de cet auteur était suspect de rage, les tissus n'ont pas étéensemencés ni examinés au point de vue histologique et bactériologique. Les animaux qui ont été trouvés pseudo-tuberculeux avaient été inoculés avec l'émulsion du cerveau du chat. Lorsqu'on sait avec quelle facilité la tuberculose zoogléique se répand parmi les petits animaux de laboratoire, à certaines époques et dans certaines localités, on ne s'étonnera pas que je me demande si, par hasard, les premiers animaux inoculés par M. Galavielle (un cobaye et un lapin) n'auraient pas été affectés de la pseudo-tuberculose spontanée, déjà avant l'inoculation. Le doute semblera d'autant plus justifié quand on saura que le chat de M. Galavielle présentait seulement un état inflammatoire du foie, de la rate et de l'intestin, sans qu'il soit fait mention de nodules tuberculiformes dans les viscères. C'est pourquoi je suis d'avis que l'« origine féline » de l'infection étudiée par M. Galavielle aurait eu besoin d'être plus rigoureusement démontrée.

Il y a trois ans, M. t'Hoens publiait dans le *Monatshefte für praktische Thierheilkunde*, Bd. XIII, page 423, le second cas de pseudo-tuberculose bacillaire spontanée d'un chat, dont la mère était morte de la même maladie, l'année précédente. M. t'Hoens décrit un foie très gros, jaune foncé, d'une consistance molle et parsemé de nodules miliaires gris, secs et fermes, sans caséification ou ramollissement purulent du centre. Les autres organes abdominaux et thoraciques ne présentaient pas d'altérations remarquables. Dans l'estomac et dans l'intestin, il y avait des traces d'un catarrhe diffus. A l'examen microscopique des pseudo-tubercules frais et dissociés, l'auteur reconnut la présence d'une bactérie polymorphe représentée par des cellules cocciformes et des éléments en forme strepto-bacillaire. M. t'Hoens réussit à isoler cette bactérie non seulement des nodules, mais encore du sang du chat infecté, et il put ainsi donner la démonstration, exacte et convaincante, qu'elle était le véritable agent spécifique de la maladie.

Les limites restreintes dans lesquelles il convient que reste cet Appendice ne me permettent pas d'exposer, dans toutes leurs particularités, les résultats obtenus par M. t'Hoens dans l'étude de sa bactérie. Les seules indications sur lesquelles il m'est permis de m'arrêter se rapportent à la structure histolo-

gique des pseudo-tubercules spontanés, telle qu'elle a été décrite par M. t'Hoens, et les réactions de son microbe en présence des couleurs.

Quant au premier point, M. t'Hoens observe que la structure des pseudo-tubercules du chat examiné par lui correspondait à celle des nodules de la *Pseudotuberculosis rodentium*, telle qu'elle est rapportée par M. Preisz, et nous avons déjà vu que cette structure est différente de celle des nodules que nous avons décrite.

Pour le second point, je rappelle que pendant que la bactérie de M. t'Hoens ne se colorait pas avec le Gram, le petit bacille existant dans les organes de mon chat opposait une forte résistance à la décoloration avec l'alcool, après le traitement par le violet de gentiane d'Erlich et le liquide de Lugol, de sorte qu'on pouvait obtenir, comme je l'ai dit, la décoloration presque complète du tissu, sans que la teinte des zooglées en fût altérée. On pouvait aussi obtenir des préparations bactérioscopiques assez démonstratives en colorant les coupes, même avec la méthode de Weigert, pour la fibrine et aussi avec celle de Kanthack, qui obtient la différenciation au moyen de l'huile d'aniline. C'est pourquoi je pense que ma pseudo-tuberculose féline est semblable, mais non identique, à celle de M. t'Hoens : tandis que celle de cet auteur se rapprocherait du type classique de la *Pseudotuberculosis rodentium* selon la description de M. Preisz, l'infection étudiée par moi serait plutôt voisine de la *Pseudotuberculosis murium* de M. Kutscher, de M. Galli-Valerio, de M. Reed et de M. Bongert, dont le microorganisme se colore avec le Gram.

Il n'est donc rien de plus naturel d'admettre que cette maladie ait été transmise par la souris au chat, par voie stomacale, attendu que les altérations les plus graves intéressaient quelques glandes annexées au tube digestif.

Explications de la planche XIV.

Fig. 1. — Culture de 6 jours sur pomme de terre.

Fig. 2. — Culture de 48 heures sur gélose inclinée.

Fig. 3. — Culture sur gélatine, par piqûre, après 40 jours.

Fig. 4. — Culture dans la gélose, par piqûre, après 6 jours d'étuve.

Fig. 5. — Colonies sur plaque de gélose, après 32 heures d'étuve (oc. 2 ; ob. 3, Koristka).

Fig. 6. — Tuberculose zooglétique du chat (voir l'appendice). Coupe de foie, colorée avec le bleu Löffler. Le nodule spécifique occupe la partie centrale de la préparation, avec ses trois couches : celle de l'intérieur correspondant à la zone dégénérative, celle du milieu à la zone parasitaire, et celle de l'extérieur à la zone d'infiltration.

Etudes sur le bacille typhique et le bacille de la peste

PAR LE D^r BESREDKA

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

A. Endotoxine typhique et son anti-endotoxine. Vaccination.

Le bacille typhique que nous avons employé fut isolé du sang d'un malade il y a plus de 2 ans; il n'a jamais passé par l'animal; sa virulence est restée pour le cobaye toujours la même : 1/7 de culture de 24 heures sur gélose représente la dose mortelle pour un cobaye de 400 grammes, en injection intrapéritonéale.

Ce bacille est toxique : le râclage des cultures de 24 heures sur gélose, chauffé pendant 1 heure à 60°, puis desséché dans le vide, tue, en injection intrapéritonéale, un cobaye de 350-400 grammes à la dose de 10 à 15 milligrammes de bacilles secs. La mort est due à la mise en liberté *in vivo* de l'endotoxine contenue à l'intérieur des corps des bacilles.

Pour mettre en liberté l'endotoxine typhique *in vitro*, il faut préparer un mélange de bacilles secs, d'eau physiologique et de sérum normal de cheval, dans des proportions déterminées (par exemple, 15 centigrammes de bacilles, 2 c. c. d'eau, 8 c. c. de sérum) de façon à provoquer une agglutination rapide.

Le mélange abandonné à la température du laboratoire est centrifugé au bout de 1 ½-2 heures de contact. Il se forme deux couches dont la supérieure est composée du mélange d'eau et de sérum et l'inférieure — des corps de bacilles typhiques.

La toxicité des deux couches mélangées est celle des bacilles secs primitivement ajoutés; mais la toxicité de chaque couche prise isolément se trouve complètement intervertie : les corps des bacilles ne sont, après le contact, que peu ou pas toxiques du tout; les cobayes en supportent impunément 0,10 centigrammes et plus, et, d'autre part, la partie liquide du mélange est devenue toxique; elle tue, dans le péritoine, un cobaye de 300 grammes à la dose de 1,5 c. c. environ. Le pouvoir toxique

du liquide subit parfois des variations sans que l'on sache exactement pourquoi, mais ce qui est certain c'est qu'il y a toujours agglutination préalable quand l'endotoxine de l'intérieur des microbes diffuse dans le liquide ambiant.

A la faveur de cette diffusion, on obtient deux corps nouveaux : d'une part, des bacilles typhiques privés de toxine *des bacilles atoxiques* et, d'autre part, *l'endotoxine typhique liquide*.

Les bacilles typhiques atoxiques présentent surtout ceci d'intéressant que, tout en étant inoffensifs, ils peuvent servir de vaccin contre l'infection typhique. Injectés (à la dose de 0,025 mg., par exemple) sous la peau de cobaye, ils confèrent l'immunité, déjà au bout de 48 heures, contre l'infection intrapéritonéale qui enlève le témoin en moins de 24 heures. L'immunité conférée par ce vaccin dure des mois.

Quant à l'endotoxine, elle se présente sous forme de liquide légèrement opalescent, toxique pour le cobaye, le lapin, le cheval; elle se précipite par l'alcool, ne se détruit qu'après un chauffage très prolongé (15 heures) à 57° et se laisse neutraliser par un *sérum anti-endotoxique*.

On obtient le sérum anti-endotoxique en injectant des bacilles typhiques — morts et vivants — dans les veines de cheval.

Mélangée avec les bacilles desséchés, l'anti-endotoxine neutralise à la manière des sérums antitoxiques connus, des doses plusieurs fois mortelles d'endotoxine : avec 0,05-0,10-0,15 centigrammes de ce sérum sec, on neutralise rapidement 5-10-15 doses mortelles de b. typhiques chauffés.

Lorsqu'on injecte séparément, d'abord, du sérum anti-endotoxique sous la peau, puis 24 heures après, dans le péritoine, des bacilles chauffés, il faut un peu plus de sérum; ainsi pour préserver le cobaye dans ces conditions contre deux doses mortelles, il ne faut pas moins de 0,05 centigrammes de sérum sec. La survie du cobaye est due, comme le montre l'examen de l'exsudat péritonéal, à l'intervention très rapide des phagocytes.

Que les leucocytes interviennent activement dans la destruction de l'endotoxine, cela ressort de l'expérience qui consiste à injecter 3 c. c. d'eau physiologique dans le péritoine de cobaye, puis 24 heures après, une dose simplement, mais sûrement mortelle de bacilles chauffés.

Le cobaye survit invariablement dans ce cas, et cela, comme le montrent les frottis faits surtout avec l'épiploon, grâce aux mono et polynucléaires qui font un déblayage extrêmement rapide (en 1 heure) des bacilles introduits dans le péritoine.

B. *Endotoxine pesteuse. Vaccination.*

Les bacilles pesteux¹ recueillis dans des boîtes de Roux, chauffés à 60° pendant 1 heure, puis desséchés, tuent la souris, en injection sous-cutanée, à la dose de cinq décimilligrammes.

Pour obtenir l'endotoxine pesteuse à l'état liquide *in vitro*, on mélange, dans des proportions déterminées, bacilles secs, eau physiologique et sérum de cheval, comme dans le cas des b. typhiques. avec cette différence que, au lieu de 2 heures, on prolonge le contact, à la glacière, pendant toute une nuit et on ne centrifuge que le lendemain.

Après la centrifugation on a, d'une part, un liquide clair qui est l'*endotoxine pesteuse* et, d'autre part, un dépôt de consistance pâteuse. constitué par des *bacilles pesteux atoxiques*.

L'endotoxine liquide est très meurtrière pour la souris. En partant, par exemple de 0,02 centigrammes de bacilles auxquels on aurait ajouté 1 c. c. d'eau physiologique, puis 4 c. c. de sérum de cheval, on obtient un liquide représentant, en moyenne, 20 doses mortelles d'endotoxine. Ici aussi la richesse du liquide en endotoxine peut varier d'un cas à l'autre, ce qui tient évidemment aux petites variations dans la teneur en sels.

L'endotoxine pesteuse se conserve pendant des mois à la glacière. Elle est thermostable : le chauffage à 55° pendant 1 heure la laisse intacte; elle ne s'atténue que faiblement à 65° (1 heure), et ne se détruit pas après un chauffage à 57° pendant 15 et même 24 heures.

Son caractère essentiel est d'être neutralisée par le sérum antipesteux.

Quant aux corps des bacilles qui restent au fond du tube après la centrifugation, ils se trouvent dépouillés d'une grande partie de leur toxicité : alors que les bacilles normaux tuent la souris à la dose de cinq décimilligrammes, on peut injecter de

1. Ces bacilles nous ont été fort obligeamment fournis par notre ami, le Dr Dujardin-Beaumetz qui a bien voulu également se charger de l'inoculation de nos souris.

ces bacilles atoxiques jusqu'à un centigramme sans déterminer la mort.

Cette perte de toxicité ne semble pas empêcher les bacilles pesteux de conserver les propriétés vaccinales vis-à-vis de l'infection pesteuse.

L'unique expérience faite dans cet ordre d'idées, a donné les résultats suivants :

A 9 souris, vaccinées à différentes périodes avec des bacilles atoxiques (0,002 mg), on inocula du virus pesteux auquel deux souris témoins ont succombé en 36 heures.

Sur ces 9 souris :

a) 3 ont été vaccinées 48 heures avant l'inoculation : une est morte après 6 jours; les 2 autres ont survécu.

b) 3 ont été vaccinées 6 jours avant l'inoculation : une est morte le 8^e jour, une autre le 11^e jour, la 3^e le 16^e jour.

c) 3 ont été vaccinées 6 semaines avant l'inoculation : toutes les 3 ont survécu.

Le gérant : G. MASSON.

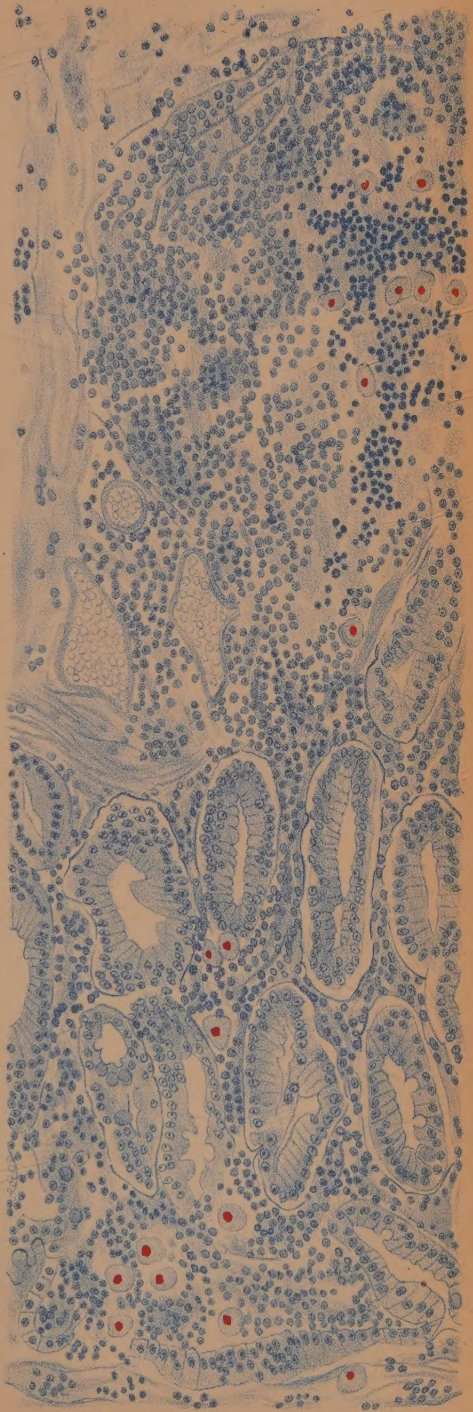
Sceaux. — Imprimerie Charaire.



1



2



3

